



2023 Том / Volume XI

№ 3

Научно-практический журнал
Scientific and Practical Journal

ISSN 2307-9266
e-ISSN 2413-2241

ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

PHARMACY & PHARMACOLOGY



Обзоры, лекции
Reviews, Lectures

Фармакогнозия, ботаника
Pharmacognosy, Botany

**Фармацевтическая технология
и биотехнология**
Pharmaceutical Technology
and Biotechnology

**Фармацевтическая
и токсикологическая химия**
Pharmaceutical and Toxicological
Chemistry

**Фармакология и клиническая
фармакология**
Pharmacology and Clinical
Pharmacology

**Информационные технологии
в фармации**
Information Technologies in Pharmacy

**Организация и экономика
фармацевтического дела**
Organization and Economy
of Pharmacy

**Экономика и менеджмент
медицины**
Economy and Management
of Medicine

Фармацевтическое образование
Pharmaceutical Education

**Дискуссии, рецензии, юбилеи,
научные школы, история
фармации и фармакологии**
Discussions, Referee Reports,
Anniversaries, Schools
of Thought, History
of Pharmacy and
Pharmacology



Научно-практический журнал

ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

Периодичность 6 номеров в год

Том 11, Выпуск 3, 2023

Свидетельство регистрации СМИ:
ПИ №ФС77–67428 от 13.10.2016 г.

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Главный редактор

Петров Владимир Иванович академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, г. Волгоград, Россия

Заместители главного редактора

Озеров Александр Александрович доктор химических наук, профессор, г. Волгоград, Россия

Черников Максим Валентинович доктор медицинских наук, доцент, г. Пятигорск, Россия

Редакционная коллегия

Фармакогнозия, ботаника

Куркин Владимир Александрович доктор фармацевтических наук, профессор, г. Самара, Россия

Зилфикаров Ифрат Назимович профессор РАН, доктор фармацевтических наук, г. Москва, Россия

Фармацевтическая технология и биотехнология

Саканян Елена Ивановна доктор фармацевтических наук, профессор, г. Москва, Россия

Фармацевтическая и токсикологическая химия / Информационные технологии в фармации

Вавер Ивона PhD, профессор, г. Варшава, Польша

Фармакология и клиническая фармакология

Ханферьян Роман Авакович доктор медицинских наук, профессор, г. Москва, Россия

Буске Паскаль MD, профессор, г. Страсбург, Франция

Кампизи Коррадино MD, PhD, профессор, г. Генуя, Италия

Организация и экономика фармацевтического дела / Экономика и менеджмент медицины

Наркевич Игорь Анатольевич доктор фармацевтических наук, профессор, г. Санкт-Петербург, Россия

Егорова Светлана Николаевна доктор фармацевтических наук, профессор, г. Казань, Россия

Сомасундарам Субраманиан MD, Россия/Индия

Статьи, представленные в разделы **Обзоры, лекции / Фармацевтическое образование / Дискуссии, рецензии, юбилеи, научные школы, история фармации и фармакологии** могут быть рассмотрены любыми членами редакционной коллегии.

Ответственный секретарь: Корянова Ксения Николаевна, кандидат фармацевтических наук, г. Пятигорск, Россия

Корректор: Мищенко Екатерина Сергеевна, кандидат фармацевтических наук, г. Пятигорск, Россия

Переводчик: Давыденко Любовь Григорьевна, кандидат филологических наук, доцент, г. Пятигорск, Россия

Технический редактор: Доценко Марина Александровна, г. Пятигорск, Россия

Учредитель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России.

400131, Россия, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1

Адрес издательства: 357532, г. Пятигорск, пр-кт Калинина, 11.

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России

Телефон: +7 (8793) 32-44-74. E-mail: pharmjournal@mail.ru

www.pharmpharm.ru

Объединенный каталог. Пресса России. Газеты и журналы. Индекс 94183

Формат А4, тираж 1000 экз. Цена свободная.

Журнал «Фармация и фармакология» включен в перечень рецензируемых научных изданий, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, и в соответствии с пунктом 5 правил формирования перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (Перечень ВАК), Scopus, Web of Science (ESCI), РИНЦ, eLibrary, ВИНТИ, РГБ, КиберЛенинка, Соционет, EMBASE, Chemical Abstracts (CAS), Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCO Discovery Service, RNMJ, University of CAMBRIDGE, Ulrich'sWeb, Google Scholar, Biefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD), Research Bible, Open Archives Initiative, Academic Keys, JournalTOCs, WorldCat, OpenAIRE, University of Oxford, The British Library, Universitait Gent, Université de Montréal, University of Saskatchewan.

Отпечатано в соответствии с предоставленными материалами в ООО «Бюро новостей», 355000, г. Ставрополь, ул. Серова, 278А.

© ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, 2023
© Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, 2023
© Авторы, 2023

Scientific and Practical Journal

PHARMACY & PHARMACOLOGY

Scientific and practical journal

Volume XI, Issue 3, 2023

The mass media registration certificate:

ПИ №ФС77–67428 от 13.10.2016

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Editor-in-Chief

Vladimir I. Petrov

Academician RAS, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Volgograd, Russia

Deputy Editor-in-Chief

Aleksandr A. Ozerov

Doctor of Sciences (Chemistry), Professor, Volgograd, Russia

Maxim V. Chernikov

Doctor of Sciences (Medicine), Associate Professor, Pyatigorsk, Russia

Editorial Board

Pharmacognosy, Botany

Vladimir A. Kurkin

Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor, Samara, Russia

Ifrat N. Zilfikarov

Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor of RAS, Moscow, Russia

Pharmaceutical Technology and Biotechnology

Elena I. Sakanyan

Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor, Moscow, Russia

Pharmaceutical and Toxicological Chemistry / Information Technologies in Pharmacy

Iwona Wawer

PhD, Professor, Warsaw (Poland)

Pharmacology and Clinical Pharmacology

Roman A. Khanfer`yan

Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Moscow, Russia

Pascal Bousquet

MD, PhD, Professor, Strasbourg, France

Campisi Corradino

MD, PhD, Professor, Genoa, Italy

Organization and Economy of Pharmacy / Economy and Management of Medicine

Igor A. Narkevich

Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor, Saint-Petersburg, Russia

Svetlana N. Egorova

Doctor of Sciences (Pharmacy), Professor, Kasan, Russia

Somasundaram Subramanian

MD, Russia/India

Manuscripts presented in sections **Reviews, Lectures / Pharmaceutical Education / Brief Reports / Discussions, Referee Reports, Anniversaries, School of Thought, History of Pharmacy and Pharmacology** can be considered by any members of the editorial board.

Executive Editor: Koryanova Ksenia N., Candidate of Sciences (Pharmacy), Pyatigorsk, Russia

Proofreader: Mischenko Ekaterina S., Candidate of Sciences (Pharmacy), Pyatigorsk, Russia

Translator: Davydenko Lubov G., Candidate of Sciences (Philology), Associate Professor, Pyatigorsk, Russia

Technical editor: Dotsenko Marina A., Pyatigorsk, Russia

Founder: Volgograd State Medical University, 1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

Editors office address: 11, Kalinin ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University

Phone number: +7(8793) 32-44-74. E-mail: pharmjournal@mail.ru

www.pharmpharm.ru

Union catalogue. Russian Press / Newspapers and journals. Code 94183

A4 size, 1000 issues circulation. Price free

Journal "Pharmacy & Pharmacology" is recommended International Committee Of Medical Journal Editors and included in Higher Attestation Commission, Scopus, Web of Science (ESCI), Russian citation database, eLibrary, ARISTI (All-Russian Institute of Scientific and Technical Information), RSL (Russian State Library), CyberLeninka, Socionet, EMBASE, Chemical Abstracts (CAS), Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCO Discovery Service, RNMJ, University of CAMBRIDGE, Ulrich'sWeb, Google Scholar, Biefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD), Research Bible, Open Archives Initiative, Academic Keys, JournalTOCs, WorldCat, OpenAIRE, University of Oxford, The British Library, Universitait Gent, Université de Montréal, University of Saskatchewan.

Printed in the LLC "Buro novostey" in accord with provided materials. 278A, Serova Str., Stavropol, 355000.

© Volgograd State Medical University, 2023

© Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute –
branch of Volgograd State Medical University, 2023

©Authors, 2023

СОДЕРЖАНИЕ / CONTENTS

ОБЗОРЫ / REVIEWS

<i>Д.Д. Мамедов, Д.С. Юрочкин, З.М. Голант, В.С. Фисенко, А.В. Алехин, И.А. Наркевич</i> Прошлое, текущее и будущее нормативного правового регулирования аптечного изготовления лекарственных препаратов в Российской Федерации.....176	<i>D.D. Mamedov, D.S. Yurochkin, Z.M. Golant, V.S. Fisenko, A.V. Alekhin, I.A. Narkevich</i> Past, current and future of legal regulation of drugs compounding in the Russian Federation176
<i>Д.В. Куркин, Е.И. Морковин, Д.А. Бакулин, Ю.В. Горбунова, Ю.А. Колосов, М.А. Джавахян, И.Е. Макаренко, Р.В. Драй, А.В. Заборовский, О.В. Шаталова, А.В. Стрыгин, В.И. Петров, А.П. Плетень, А.А. Прокопов, Т.Ю. Татаренко-Козмина</i> Обзор лекарственных средств, одобренных FDA в 2022 году193	<i>D.V. Kurkin, E.I. Morkovin, D.A. Bakulin, Yu.V. Gorbunova, Yu.A. Kolosov, M.A. Dzhavakhyan, I.E. Makarenko, R.V. Drai, A.V. Zaborovsky, O.V. Shatalova, A.V. Strygin, V.I. Petrov, A.P. Pleten, A.A. Prokopov, T.Yu. Tatarenko-Kozmina</i> Overview of drugs approved by the FDA in 2022193

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ / RESEARCH ARTICLE

<i>И.Н. Тюренков, Д.А. Бакулин, А.В. Смирнов, М.Р. Экова, А.И. Бисинбекова, Г.Л. Снигур, Ю.И. Великородная, Е.И. Морковин, Д.В. Верхоляк, О.С. Васильева</i> Нейропротективные свойства ГАМК и её производных при диабетической энцефалопатии у старых животных.....211	<i>I.N. Tyurenkov, D.A. Bakulin, A.V. Smirnov, M.R. Ekova, A.I. Bisinbekova, G.L. Snigur, Yu.I. Velikorodnaya, E.I. Morkovin, D.V. Verkholyak, O.S. Vasilyeva</i> Neuroprotective properties of GABA and its derivatives in diabetic encephalopathy in old animals.....211
<i>Ю.В. Шевчук, А.В. Крюков, И.И. Темирбулатов, И.В. Сычев, К.Б. Мирзаев, Н.П. Денисенко, Ш.П. Абдуллаев, С.Н. Тучкова, В.И. Вечорко, О.В. Аверков, Д.А. Сычев</i> Модель прогнозирования риска развития лекарственного поражения печени на фоне терапии ремдесивиром: обсервационное проспективное открытое контролируемое исследование228	<i>Yu.V. Shevchuk, A.V. Kryukov, I.I. Temirbulatov, I.V. Sychev, K.B. Mirzaev, N.P. Denisenko, Sh.P. Abdullaev, S.N. Tuchkova, V.I. Vechorko, O.V. Averkov, D.A. Sychev</i> Model for predicting risk of developing drug-induced liver injury during remdesivir therapy: observational prospective open case-control study228
<i>А.Л. Хохлов, И.И. Яичков, А.А. Шетнев, С.А. Ивановский, М.К. Корсаков, О.А. Гасилина, Н.Н. Вольхин, С.С. Петухов</i> Изучение биотрансформации нового селективного ингибитора карбоангидразы II 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида240	<i>A.L. Khokhlov, I.I. Yaichkov, A.A. Shetnev, S.A. Ivanovskiy, M.K. Korsakov, O.A. Gasilina, N.N. Volkhin, S.S. Petukhov</i> Study of biotransformation of new selective carbonic anhydrase II inhibitor 4-(2-methyl-1,3-oxazole-5-yl)-benzenesulfonamide240
<i>А.С. Аметов, И.Е. Шохин, Е.А. Рогожина, Т.Г. Бодрова, М.Е. Невретдинова, П.А. Белый, К.Я. Заславская, Д.В. Куркин, К.Н. Корянова, Е.С. Мищенко, С.М. Носков</i> Российская разработка для лекарственной независимости в эндокринологии: сравнительный анализ биоэквивалентности, безопасности и переносимости первого отечественного лираглутида 255	<i>A.S. Ametov, I.E. Shokhin, E.A. Rogozhina, T.G. Bodrova, M.E. Nevretdinova, P.A. Bely, K.Ya. Zaslavskaya, D.V. Kurkin, K.N. Koryanova, E.S. Mishchenko, S.M. Noskov</i> Russian development for drug independence in endocrinology: comparative analysis of bioequivalence, safety and tolerability of the first domestic liraglutide255

УДК 615.1



Прошлое, текущее и будущее нормативного правового регулирования аптечного изготовления лекарственных препаратов в Российской Федерации

Д.Д. Мамедов¹, Д.С. Юрочкин¹, З.М. Голант¹, В.С. Фисенко², А.В. Алехин^{3,4}, И.А. Наркевич¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,
197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

² Министерство здравоохранения Российской Федерации,
127994, Россия, г. Москва, ГСП 4, Рахмановский пер., д. 3.

³ Акционерное общество «АЛТАЙВИТАМИНЫ»,
659325, Россия, г. Бийск, ул. Заводская, д. 69

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (Национальный исследовательский университет)»,
105005, Россия, г. Москва, 2-я Бауманская ул., д. 5, стр. 1

E-mail: devi.mamedov@mail.ru

Получена 15.06.2023

После рецензирования 20.08.2023

Принята к печати 20.09.2023

На сегодняшний день деятельность производственных аптек в части изготовления лекарственных препаратов и внутриаптечной фасовки зарегистрированных лекарственных препаратов рассматривается в качестве приоритетной социальной задачи Российской Федерации, в связи с необходимостью решения задач, направленных на обеспечение стратегической независимости государства от внешних и внутренних вызовов, а также угроз, широкого внедрения методов персонализированной фармакотерапии, возможностей в сфере оптимизации затрат системы здравоохранения.

Цель. Провести исторический анализ и всесторонний обзор текущего состояния нормативного правового регулирования российского фармацевтического рынка в области изготовления лекарственных препаратов, а также разработать предложения по совершенствованию регуляторного поля.

Материалы и методы. В работе использованы методологические инструменты: эмпирические, теоретические, количественные. В частности, проведён анализ широкого перечня релевантных источников информации и получены сведения из нормативных правовых документов, регулирующих деятельность производственных аптек на территории Российской Федерации. В данном исследовании авторами применён метод библиометрического анализа.

Результаты. В статье представлены основные элементы российского законодательства в сфере обращения лекарственных средств с целью всестороннего понимания классификации и определения роли экстермпоральных лекарственных препаратов в российской системе здравоохранения. Последовательно изложен историко-технический анализ развития регуляторной практики. Рассматриваются ключевые вопросы организации фармацевтического дела в области изготовления и отпуска лекарственных препаратов на территории Российской Федерации, а также представлены актуальные задачи, которые предстоит решить при совершенствовании регуляторного поля.

Заключение. Проведённый обзор позволяет уточнить дальнейшие действия по совершенствованию федерального законодательства и подзаконных нормативных правовых актов в сфере обращения лекарственных препаратов, изготавливаемых аптечными организациями. В работе представлены рекомендации, которые могут способствовать развитию деятельности производственных аптек в субъектах Российской Федерации.

Ключевые слова: обращение лекарственных средств в Российской Федерации; изготовление лекарственных препаратов; экстермпоральные лекарственные препараты; разведение (восстановление) лекарственных препаратов; производственные аптеки; история аптечного изготовления лекарственных препаратов; фармацевтический рынок России; объём продаж экстермпоральных лекарственных препаратов; правила изготовления и отпуска лекарственных препаратов; надлежащая практика изготовления и отпуска лекарственных препаратов

Список сокращений: ЛП – лекарственный препарат; ЕС – Европейский союз; ЭЛП – экстермпоральный лекарственный препарат; АО – аптечная организация; ЛФ – лекарственная форма; ЛС – лекарственное средство; АФС – активная фармацевтическая субстанция; ЛПУ – лечебно-профилактическое учреждение; ЖНВЛП – жизненно необходимые и важнейшие лекарственные препараты; ЛФП – зарегистрированный лекарственный препарат; РФЛП – радиофармацевтические лекарственные препараты; РУ – регистрационное удостоверение; ГРЛС – Государственный реестр лекарственных средств; FDA – Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов; GxP – система надлежащих практик.

Для цитирования: Д.Д. Мамедов, Д.С. Юрочкин, З.М. Голант, В.С. Фисенко, А.В. Алехин, И.А. Наркевич. Прошлое, текущее и будущее нормативного правового регулирования аптечного изготовления лекарственных препаратов в Российской Федерации. *Фармация и фармакология*. 2023;11(3):176-192. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-3-176-192

© Д.Д. Мамедов, Д.С. Юрочкин, З.М. Голант, В.С. Фисенко, А.В. Алехин, И.А. Наркевич, 2023

For citation: D.D. Mamedov, D.S. Yurochkin, Z.M. Golant, V.S. Fisenko, A.V. Alekhin, I.A. Narkevich. Past, current and future of legal regulation of drugs compounding in the Russian Federation. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(3):176-192. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-3-176-192

Past, current and future of legal regulation of drugs compounding in the Russian Federation

D.D. Mamedov¹, D.S. Yurochkin¹, Z.M. Golant¹, V.S. Fisenko², A.V. Alekhin^{3,4}, I.A. Narkevich¹

¹ Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University,
14A, Prof. Popov Str., Saint Petersburg, Russia, 197022

² The Ministry of Health of the Russian Federation,
3, Rakhmanovsky Ln, City Service Post Office-4, Moscow, Russia, 127994

³ Joint Stock Company "ALTAIVITAMINS",
69, Zavodskaya Str., Biysk, Russia, 659325

⁴ Bauman Moscow State Technical University,
5-1, 2nd Baumanskaya Str., Moscow, Russia, 105005

E-mail: devi.mamedov@mail.ru

Received 15 June 2023

After peer review 20 Aug 2023

Accepted 20 Sep 2023

Today the activities of compounding pharmacies in terms of the drug compounding and in-pharmacy packaging of approval drugs is considered as a priority social task of the Russian Federation, due to the need to solve problems that are aimed at ensuring the strategic independence of the state from external and internal challenges, as well as threats, widespread introduction of personalized pharmacotherapy methods, opportunities in the field of optimizing the costs of the healthcare system.

The aim of the study was to conduct a historical analysis and comprehensive review of the current state of legal and regulatory framework of the Russian pharmaceutical market in the field of compounding drugs, as well as to develop proposals for improving the regulatory field.

Materials and methods. The following methodological tools – empirical, theoretical, quantitative ones – have been used in the work. In particular, an analysis of a wide range of relevant sources of information was carried out and information was obtained from legal and regulatory framework for the activities of compounding pharmacies in the Russian Federation, which was implemented using a bibliometric method of analysis.

Results. The main elements of the Russian legislation in the field of drug circulation with the aim of a comprehensive understanding of the classification and determination of the role of extemporaneous drugs in the Russian healthcare system, are presented in the article. A historical and technical analysis of the regulatory practice development is consistently presented. The key issues of organizing the pharmaceutical business in the field of compounding and dispensing of drugs on the territory of the Russian Federation have been considered, and current problems that need to be solved when improving the regulatory field, are presented.

Conclusion. The review conducted makes it possible to clarify further actions to improve federal legislation and delegated legislation in the field of circulation of compounded drugs by pharmacy organizations. The work presents recommendations that will contribute to the development of compounding pharmacies in the constituent entities of the Russian Federation.

Keywords: drug circulation in the Russian Federation; drugs compounding; extemporaneous drugs; diluting (reconstitution) of drugs; compounding pharmacies; history of pharmaceutical compounding of drugs; Russian pharmaceutical market; sales volume of extemporaneous drugs; rules for compounding and dispensing of drugs

Abbreviations: MP – medicinal product / preparation; EU – European Union; ED – extemporaneous drug; PO – pharmacy organization; DF – dosage form; API – active pharmaceutical ingredient; MPTF – medical and preventive treatment facility; EMs – List of Essential Medicines; FD – approval drug; RPD – radiopharmaceutical drugs; MA – marketing authorization; SRMRs – State Register of Medicinal Remedies; FDA – Food and Drug Administration; GxP – Good Practice.

ВВЕДЕНИЕ

С развитием промышленных мануфактур, сегмент аптечного изготовления лекарственных препаратов (ЛП) в СССР переживал схожие с Европейским союзом (ЕС) [1] и США [2] процессы стагнации в сфере деятельности производственных аптек. По данным на 1939 год, в Советском Союзе изготавливаемые аптечными организациями (АО) ЛП (а именно экстенпоральные ЛП – ЭЛП) занимали долю, равную 60–70% от всех ЛП, реализованных

в АО [3], в 1961 году – 55%, в 1980 году – 18% при преобладании парентеральных лекарственных форм (ЛФ) в размере до 40–50% в больничных аптеках. Несмотря на это, исходя из выполненного контент-анализа [1, 4–6], следует систематический вывод о том, что в 80-е годы XX века СССР обладал самой развитой сетью производственных аптек в мире.

Распад Советского Союза привел к формированию рынка обращения лекарственных

средств (ЛС) в России с параметрами, которые вытекали из специфики ранее функционировавшей системы здравоохранения, а именно – бесплатного оказания медицинской помощи и обеспечения населения ЛП [7]. Разрыв производственных цепочек и одновременно возникший экономический кризис привели к быстрому падению локального производства ЛП и активных фармацевтических субстанций (АФС). Так, например, за период с 1992 по 2008 гг. объем производства последних в РФ сократился более чем в 20 раз [8]. Отсутствие доступа к исходному сырью в совокупности с недостаточным регуляторным воздействием привели к закрытию большей части производственных аптек, сокращение которых в РФ прослеживается ежегодно. В частности, согласно проведенному исследованию [9], 36% АО прекратили ведение деятельности по изготовлению ЛП в период с 2015 по 2019 гг. Именно в то же самое время фармацевтические работники переориентировали свою деятельность на промышленные предприятия по производству ЛС, а также АО, осуществляющие розничную торговлю ЛП. На сегодняшний день, количество АО, имеющих лицензию на фармацевтическую деятельность с правом изготовления и отпуска ЛП, оценивается в размере менее 0,5% к общему количеству АО [10].

Принятый в 2010 году Федеральный закон № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (ФЗ-61)¹, был направлен на гармонизацию отечественного законодательства с европейским и, следовательно, имплементацию системы надлежащих практик (GxP) во все сферы фармацевтического рынка, что было реализовано на всех уровнях обращения ЛС за исключением сегмента аптечного изготовления ЛП.

Производственные аптеки являются элементом как системы здравоохранения, так и системы социальной защиты населения в части обеспечения ЛП отдельных категорий граждан, имеющих право на получение государственной помощи.

На сегодняшний день российская система лекарственного обеспечения столкнулась со сложностями в отношении своих базовых задач в части перехода от снабжения пациентов упаковками ЛП касательно курсовых назначений, что в т.ч. связано с отсутствием в законодательстве одного из элементов GxP – изготовления ЛП производственными аптеками, а также внутриаптечной фасовки зарегистрированных ЛП. Последнее, по мнению авторов настоящего исследования, в ближайшее десятилетие вероятно станет одним из ключевых направлений совершенствования законодательства РФ в части обращения ЛС. При этом потребность в изменении нормативного правового регулирования будет исходить из уже установленных и основных функций производственных аптек

и вновь создаваемой современной аптечной инфраструктуры, а именно:

1. Обеспечения прямого физического доступа к ЛП.

В настоящее время имеют место случаи, когда фармацевтической промышленностью не предлагается альтернатива фасовки и объема, особенно по дорогостоящим и высокочувствительным ЛП, которые не зарегистрированы в РФ, что влияет на рациональность расходования денежных средств вне зависимости от источника финансирования – государственного или собственных средств граждан. Более того, без прямого контроля расходов на лекарственное обеспечение конкретного пациента в необходимом курсовом объеме терапии невозможно достижение бюджетной эффективности, поскольку отсутствуют сопоставимые критерии для сравнения [1, 11].

2. Прямого фармакоэкономического преимущества производственных аптек:

– за счёт фасовки зарегистрированных ЛП в «балк» форме (тем самым достигая цели по решению задачи в сфере систематизации здравоохранения в учёте затраченных курсовых назначений);

– за счёт прямой экономии при изготовлении ЛП в тех нозологиях, где это обоснованно (орфанные ЛП, противоопухолевая лекарственная терапия, высокотехнологические ЛП и др.).

Настоящее исследование в существенном объёме раскрывает действующую нормативную правовую базу обращения ЛС в РФ, тем самым демонстрируя в ней место аптечного изготовления ЛП, а также конкретизирует прошлое и текущее состояние регулирования деятельности производственных аптек, в т.ч. задавая возможные вектора развития последних.

ЦЕЛЬ. Проведение исторического анализа и всестороннего обзора текущего состояния нормативного и правового регулирования российского фармацевтического рынка в области изготовления лекарственных препаратов, а также в разработке предложений по совершенствованию соответствующего регуляторного поля.

Данная статья является продолжением цикла работ авторов, которые посвящены формированию единой гармонизированной системы нормативного и правового регулирования в области обращения ЛП, изготавливаемых АО в РФ [1, 2, 9–12].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы методологические инструменты: эмпирические, теоретические, количественные. В частности, проведён анализ широкого перечня релевантных источников информации и получены сведения из нормативных и правовых документов, регулирующих деятельность производственных аптек на территории РФ, что реализовано библиометрическим методом анализа.

В качестве материалов применены сведения из различных источников информации. В части

¹ Федеральный закон от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/902209774>

анализа нормативных правовых документов использованы: электронный фонд нормативно-технической и нормативно-правовой информации Консорциума «Кодекс», справочная правовая система «КонсультантПлюс». Для анализа результатов исследований других авторов использованы релевантные источники информации и данные поисковых систем: по биомедицинским исследованиям PubMed, научной электронной библиотеки eLibrary.ru, Российской национальной библиотеки, Национальной электронной библиотеки, академии Google. Глубина поиска составила 1917–2023 год. Выбор периода обусловлен историческими событиями и началом активного развития деятельности по изготовлению ЛП в СССР. Поиск литературы осуществляли на русском и английском языках по следующим ключевым словам / комбинациям: «обращение лекарственных средств в Российской Федерации»; «изготовление лекарственных препаратов»; «экстемпоральные лекарственные препараты»; «разведение (восстановление) лекарственных препаратов»; «производственные аптеки»; «история аптечного изготовления лекарственных препаратов»; «фармацевтический рынок России»; «объем продаж экстемпоральных лекарственных препаратов»; «правила изготовления и отпуска лекарственных препаратов»; «надлежащая практика изготовления и отпуска лекарственных препаратов».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Классификационная принадлежность экстемпоральных лекарственных препаратов

Основным нормативным правовым документом, регулирующим рынок обращения ЛС в РФ, является ФЗ-61, согласно которому не установлено отдельное определение ЭЛП. Исходя из системного толкования ст. 4, 13 и 56 ФЗ-61, а также других нормативных правовых документов, следует вывод о том, что ЭЛП относятся к ЛП. Кроме того, в ФЗ-61 отсутствует определение зарегистрированных ЛП (одобренных Минздравом России [13] – уполномоченным федеральным органом государственной власти, министерством РФ, аналогичным по своему функционалу с FDA; далее – ГЛФ). Согласно ст. 14 и ст. 17 ФЗ-61, фактом регистрации ГЛФ является полученное заявителем регистрационное удостоверение (РУ) на ЛП, выданное в результате экспертизы регистрационного досье. Схема распределения используемых в ФЗ-61 основных дефиниций представлена на рисунке 1.

По смыслу п. 5 ст. 13 ФЗ-61 государственной регистрации [14] в РФ не подлежат:

– ЛП, изготовленные АО, которые имеют лицензию на фармацевтическую деятельность, по рецептам на ЛП и требованиям медицинских организаций;

– ЛП, приобретенные физическими лицами за пределами РФ и предназначенные для личного использования;

– ЛП, ввозимые в РФ для оказания медицинской помощи по жизненным показаниям конкретного пациента на основании разрешения, выданного уполномоченным федеральным органом исполнительной власти;

– ЛП, ввозимые в РФ на основании выданного уполномоченным федеральным органом исполнительной власти разрешения и предназначенные для проведения клинических исследований ЛП и (или) проведения экспертизы ЛС для осуществления государственной регистрации ЛП – АФС;

– радиофармацевтические ЛП (РФЛП), изготовленные непосредственно в медицинских организациях (МО), в порядке, установленном уполномоченным федеральным органом исполнительной власти;

– ЛП, производимые для экспорта.

Согласно ст. 33 ФЗ-61 перечень ГЛФ и перечень АФС, входящих в состав ГЛФ, содержатся в государственном реестре лекарственных средств (ГРЛС)² [15]. Согласно п. 2 ст. 33, АФС, произведенная для реализации, может быть включена в ГРЛС на основании заявления разработчика или производителя ЛС, либо уполномоченного ими юридического лица при условии проведения в отношении такой АФС экспертизы качества в порядке, установленном ст. 34 ФЗ-61. Таким образом, АФС на рынке обращения ЛС РФ могут существовать в двух разных состояниях:

– внесенные в состав РУ такие АФС могут использовать только держатели РУ (продажа указанных АФС сторонним компаниям запрещена);

– включенные в ГРЛС такие АФС можно продавать всем производителям ЛС, а также субъектам оптовой торговли ЛС и производственным аптекам.

Лицензирование в сфере обращения ЛС

В соответствии с ФЗ-61 производство ЛС и фармацевтическая деятельность разделены [16]. При этом последняя состоит из розничной торговли ЛП и оптовой торговли ЛС. Одновременно, фармацевтическая деятельность по изготовлению ЛП является видом розничной торговли ЛП (Рис. 2).

Для производства ЛС необходимо получить соответствующую лицензию (ст. 45 ФЗ-61). Порядок лицензирования деятельности по производству ЛС утверждён постановлением Правительства РФ от 6 июля 2012 г. № 686 (далее – Постановление № 686)³, исходя из которого, лицензирование производства ЛС осуществляется уполномоченным федеральным органом исполнительной власти – Минпромторгом России [17]. Для получения лицензии производители ЛС должны соответствовать

² Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx>

³ Постановление Правительства РФ от 6 июля 2012 г. № 686 «Об утверждении Положения о лицензировании производства лекарственных средств». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/902356716>

критериям Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза (далее – Правила GMP ЕАЭС)⁴ – адаптированный перевод Правил надлежащей производственной практики ЕС⁵. Подтверждение производственной площадки на соответствие Правилам GMP ЕАЭС осуществляется посредством предварительной процедуры инспектирования. Полномочия на проведение инспекции на данный момент переданы ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» [18], подведомственному Минпромторгу России.

Согласно ст. 54 ФЗ-61, оптовая торговля ЛС разрешена для производителей ЛС и организаций оптовой торговли ЛС, отвечающих требованиям Правил надлежащей дистрибьюторской практики в рамках Евразийского экономического союза (далее – Правила GDP ЕАЭС)⁶ [19]. Необходимо отметить, что прямая норма по соблюдению производителями ЛС указанных правил не предусмотрена Постановлением № 686. Порядок лицензирования фармацевтической деятельности (оптовой и розничной торговли) утвержден постановлением Правительства РФ от 31 марта 2022 г. № 547⁷.

Основные требования к порядку осуществления розничной торговли ЛП описаны в ст. 55 ФЗ-61 и реализуются посредством установления соответствия АО Правилам надлежащей аптечной практики (далее – приказ № 647н)⁸. Однако указанные правила посвящены исключительно розничной торговле ГЛФ, что существенно отличается от подходов к надлежащим аптечным практикам, реализованным, например, в ЕС, а также странах Евразийского экономического союза (Республика Казахстан, Республика Беларусь) [1].

В Российской Федерации разрешена дистанционная торговля ГЛФ, за исключением ЛП, отпускаемых по рецепту на ЛП, наркотических и психотропных, а также спиртосодержащих ЛП с объемной долей этилового спирта свыше 25%, при наличии лицензии на розничную торговлю ЛП и

соответствующего разрешения⁹ федерального органа исполнительной власти, который осуществляет функции по контролю и надзору в сфере здравоохранения – Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения (далее – Росздравнадзор) [20]. На момент сдачи рукописи статьи в печать, дистанционная торговля рецептурными ГЛФ осуществляется в пилотном (тестовом) режиме на территориях г. Москвы, Московской и Белгородской областей по ограниченному перечню международных непатентованных наименований (МНН)¹⁰ [21]. Порядок осуществления розничной торговли ЛП, отпускаемыми по рецепту на ЛП, дистанционным способом введен Федеральным законом от 20 октября 2022 г. № 405-ФЗ¹¹. При этом, постановлением Правительства РФ от 28 декабря 2022 г. № 2465¹² запрещена онлайн-продажа ЭЛП.

Изготовление ЛП регулируется ст. 56 ФЗ-61 и осуществляется АО, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность на основании рецептов на ЛП и требований МО, в соответствии с Правилами изготовления и отпуска ЛП, утвержденными приказом Минздрава России от 22 мая 2023 г. № 249н (далее – приказ № 249н)¹³.

Виды АО установлены в приказе Минздрава

⁹ Приказ Росздравнадзора от 28 мая 2020 г. № 4394 «Об утверждении Перечня документов, подтверждающих соответствие аптечной организации требованиям, дающим право на осуществление розничной торговли лекарственными препаратами для медицинского применения дистанционным способом, Порядка ведения реестра выданных разрешений на осуществление розничной торговли лекарственными препаратами для медицинского применения дистанционным способом и форм документов, используемых Федеральной службой по надзору в сфере здравоохранения при выдаче разрешения на осуществление розничной торговли лекарственными препаратами для медицинского применения дистанционным способом». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_354200/

¹⁰ Постановление Правительства РФ от 22 февраля 2023 г. № 292 «Об утверждении Положения о порядке проведения эксперимента по осуществлению розничной торговли лекарственными препаратами для медицинского применения, отпускаемыми по рецепту на лекарственный препарат, дистанционным способом». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1300876915>

¹¹ Федеральный закон от 20 октября 2022 г. № 405-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202210200012>

¹² Постановление Правительства Российской Федерации от 28 декабря 2022 г. № 2465 «Об утверждении критериев включения лекарственных препаратов и фармакотерапевтических групп лекарственных препаратов в перечень лекарственных препаратов и фармакотерапевтических групп лекарственных препаратов, разрешенных к реализации в рамках эксперимента по осуществлению розничной торговли лекарственными препаратами для медицинского применения, отпускаемыми по рецепту на лекарственный препарат, дистанционным способом». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202212290005>

¹³ Приказ Минздрава России от 22 мая 2023 г. № 249н «Об утверждении правил изготовления и отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения аптечными организациями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1301699481>

⁴ Решение Совета ЕЭК от 3 ноября 2016 г. № 77 «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/456026099>

⁵ Сравнение и анализ требований GMP Российской Федерации и ЕАЭС. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://gxpnews.net/2020/08/sravnenie-i-analiz-trebovanij-gmp-rossijskoj-federacii-i-eaes/>

⁶ Решение Совета ЕЭК от 3 ноября 2016 г. № 80 «Об утверждении Правил надлежащей дистрибьюторской практики в рамках Евразийского экономического союза». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/456026098>

⁷ Постановление Правительства РФ от 31 марта 2022 г. № 547 «Об утверждении Положения о лицензировании фармацевтической деятельности». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/350167126>

⁸ Приказ Минздрава России от 31 августа 2016 г. № 647н «Об утверждении Правил надлежащей аптечной практики лекарственных препаратов для медицинского применения». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/564406688>

Федеральный закон от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ

Разработка, доклинические исследования, клинические исследования, экспертиза, государственная регистрация, стандартизация и контроль качества, производство, изготовление, хранение, перевозка, ввоз и вывоз, реклама, отпуск, реализация, передача, применение, уничтожение лекарственных средств

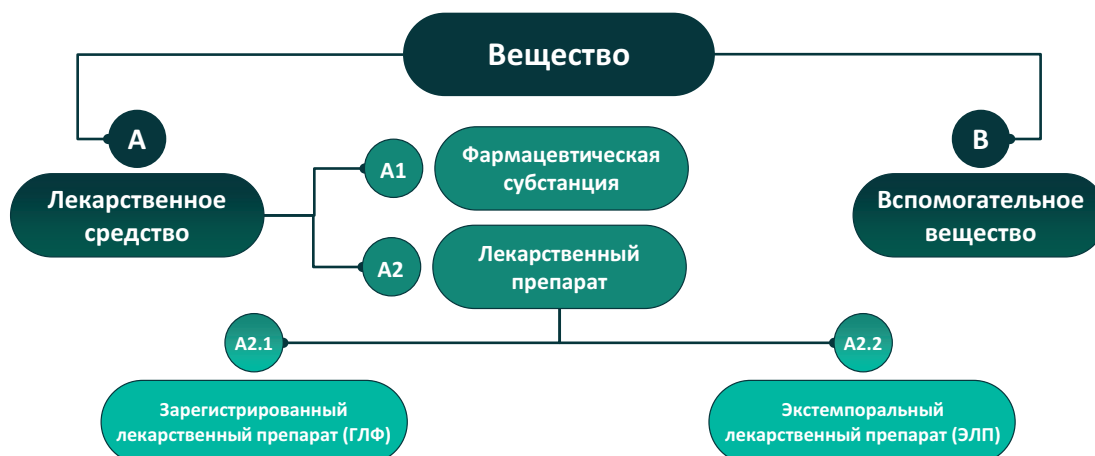


Рисунок 1 – Определение лекарственного средства согласно ФЗ-61



Рисунок 2 – Взаимосвязь производства ЛС и фармацевтической деятельности



Рисунок 3 – Виды аптечных организаций в Российской Федерации



Рисунок 4 – Каналы продаж ЛС в Российской Федерации

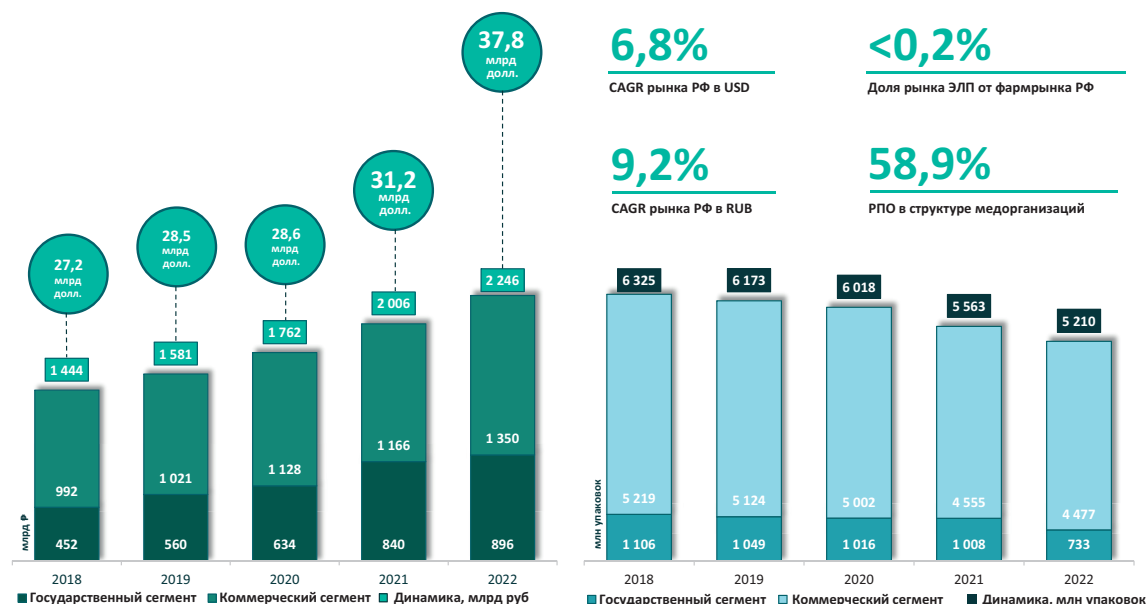
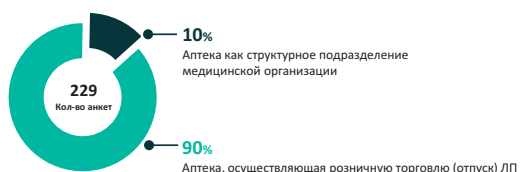


Рисунок 5 – Емкость фармацевтического рынка Российской Федерации

205 производственных аптек

Относятся к амбулаторному сегменту отпуска



84 производственные аптеки

Наблюдается крайний дефицит провизоров-аналитиков и провизоров-технологов



140

Производственных аптек могут осуществлять изготовление стерильных форм, а РПФ по фармлицензии не изготавливают (кадры, п. 2 ст. 56 61-ФЗ, лицензирование)



16,9 млн ед.

Количество единиц продукции по итогам 2022 года

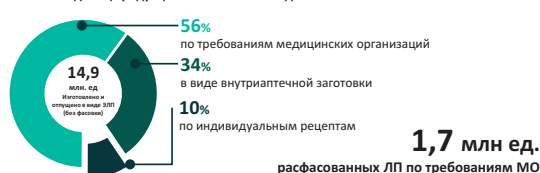


Рисунок 6 – Консолидированные результаты мониторинга производственных аптек Российской Федерации



Рисунок 7 – Ключевые нормы регулирования производственных аптек

Таблица 1 – Требования к микробиологической чистоте воздуха при изготовлении лекарственных препаратов

Правила GMP ЕАЭС		СанПиН 2.1.3678-20		
Класс чистоты	Общее количество микроорганизмов в 1 м ³ воздуха (КОЕ/м ³)	Класс чистоты	Общее количество микроорганизмов в 1 м ³ воздуха (КОЕ/м ³)	
			в оснащённом состоянии	в эксплуатируемом состоянии
A	<1	A	200	500
B	10	B	500	750
C	100	–	–	–
D	200	–	–	–

России от 31 июля 2020 г. № 780н¹⁴ [22] и включают в себя, но не ограничиваются (Рис. 3):

1. Аптека, осуществляющая розничную торговлю (отпуск) ЛП населению:

- ГЛФ;
- производственная с правом изготовления ЛП;
- производственная с правом изготовления асептических ЛП.

2. Аптека как структурное подразделение МО:

- ГЛФ;
- производственная с правом изготовления ЛП;
- производственная с правом изготовления асептических ЛП;
- производственная с правом изготовления РФЛП.

Таким образом, деятельность по изготовлению ЛП относится к розничной торговле ЛП, приравнена к магазинам и не относится к учреждениям здравоохранения, что существенно отличается от подходов развитых систем здравоохранения, где АО являются полноценными участниками оказания медицинской помощи населению и системы лекарственного обеспечения, выполняя функции по оказанию фармацевтической помощи

населению в соответствии с установленными видами фармацевтических услуг и работ [1, 23].

Требования к помещениям АО описаны в рамках постановления Главного государственного санитарного врача РФ от 24 декабря 2020 г. № 44 (далее – СанПиН 2.1.3678-20)¹⁵. Порядок назначения и отпуска ЛП (включая правила оформления рецептов) в РФ осуществляются в соответствии с приказом Минздрава России от 24 ноября 2021 г. № 1094н¹⁶ [24, 25], отпуск ЛП (продажа) населению согласно приказу Минздрава России от 24 ноября

¹⁵ Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 24 декабря 2020 г. № 44 «Об утверждении санитарных правил СП 2.1.3678-20 «Санитарно-эпидемиологические требования к эксплуатации помещений, зданий, сооружений, оборудования и транспорта, а также условиям деятельности хозяйствующих субъектов, осуществляющих продажу товаров, выполнение работ или оказание услуг». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/573275590>

¹⁶ Приказ Минздрава России от 24 ноября 2021 г. № 1094н Об утверждении Порядка назначения лекарственных препаратов, форм рецептурных бланков на лекарственные препараты, Порядка оформления указанных бланков, их учета и хранения, форм бланков рецептов, содержащих назначение наркотических средств или психотропных веществ, Порядка их изготовления, распределения, регистрации, учета и хранения, а также Правил оформления бланков рецептов, в том числе в форме электронных документов. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/727251258>

¹⁴ Приказ Минздрава России от 31 июля 2020 г. № 780н «Об утверждении видов аптечных организаций». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/565649073>

2021 г. № 1093н¹⁷ [26].

Каналы торговли, отпуска и продажи ЛС субъектами обращения ЛС на территории РФ представлены на рисунке 4.

Качество ЛС должно соответствовать требованиям Государственной фармакопеи РФ, которая представляет из себя свод общих фармакопейных статей, описывающих общие требования к ЛФ, а также методам и методикам контроля качества ЛС, и фармакопейных статей, содержащих в себе требования к качеству конкретного ЛС.

Объем продаж ЭЛП

Право граждан на лекарственное обеспечение является прерогативой каждого гражданина РФ на охрану здоровья, закрепленного ст. 41 Конституции РФ [27, 28]. На сегодняшний день в РФ медицинская помощь населению предоставляется системой государственных учреждений [29], финансирование которых осуществляется с помощью разных уровней бюджетного обеспечения РФ. По общему принципу лекарственное обеспечение населения РФ при оказании бесплатной медицинской помощи осуществляется в рамках Перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов (ЖНВЛП), который ежегодно утверждается Правительством РФ¹⁸ [30]. Доступность бесплатных для населения ЛП фиксируется согласно

базовой программе государственных гарантий, в соответствии со ст. 80 ФЗ № 323 от 21 ноября 2011 г. (далее – ФЗ-323)¹⁹. Каждый гражданин РФ отчисляет 5,1% от заработной платы на финансирование Федерального фонда обязательного медицинского страхования [31, 32], из которого финансируются вышеуказанная программа (гл. 34 Налогового Кодекса РФ), при этом уплата налога осуществляется работодателем. Последнее привело к разделению российского фармацевтического рынка на коммерческий сегмент (продажи АО) [33] и государственный сегмент (закупки МО в соответствии с ФЗ от 5 апреля 2013 г. № 44-ФЗ (далее – ФЗ-44)²⁰ [34]. Динамика фармацевтического рынка РФ отражена на рисунке 5²¹.

Согласно ранее упомянутому исследованию [9], в 2022 году было установлено, что общее количество изготовленных ЛП в производственных аптеках составило 16,9 млн. единиц. В структуре изготовленных ЛП преобладает спрос на услуги (работы) по изготовлению ЛП и внутриаптечной фасовке зарегистрированных ЛП по требованиям медицинских организаций: 34% из всего количества изготовленных и отпущенных единиц приходится на изготовленные ЛП в виде внутриаптечной заготовки – предварительно изготовленные ЛП, предназначенные для отпуска по наиболее часто поступающим в АО рецептам на ЛП или требованиям медицинских организаций (Рис. 6).

На текущий момент, по экспертной оценке авторов статьи, общий рынок обращения ЭЛП в РФ составляет порядка 3,5–4,0 млрд рублей (38,0–44,0 млн. USD на дату публикации настоящего исследования). При этом он представлен устаревшими рецептурами, где практически 95% приходится на амбулаторный сегмент отпуска в розничном сегменте. Стоит отметить, что недостаточное предложение в адрес медицинского сообщества о применении современных рецептов и отсутствие системного спроса со стороны системы здравоохранения, как в сегментах региональных и федеральных льгот, так и со стороны медицинских организаций, участвующих в системе обязательного медицинского страхования, объем рынка ЭЛП, сохраняют свою незначительную долю, однако имеет значительный потенциал и предпосылки к развитию. Ограниченный спрос, прежде всего, связан с устаревшей инфраструктурой АО и её системной стагнацией, перекосом в сторону розничной торговли зарегистрированными ЛП, что в целом вызвано текущими положениями законодательства. Несмотря на ежегодный прирост

¹⁷ Приказ Минздрава России от 24 ноября 2021 г. № 1093н «Об утверждении Правил отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на осуществление фармацевтической деятельности, медицинскими организациями, имеющими лицензию на осуществление фармацевтической деятельности, и их обособленными подразделениями (амбулаториями, фельдшерскими и фельдшерско-акушерскими пунктами, центрами (отделениями) общей врачебной (семейной) практики), расположенными в сельских поселениях, в которых отсутствуют аптечные организации, а также Правил отпуска наркотических средств и психотропных веществ, зарегистрированных в качестве лекарственных препаратов для медицинского применения, лекарственных препаратов для медицинского применения, содержащих наркотические средства и психотропные вещества в том числе Порядка отпуска аптечными организациями иммунобиологических лекарственных препаратов». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/727251237>

¹⁸ Распоряжение Правительства РФ от 12 октября 2019 г. № 2406-р «Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения на 2020 год, перечня лекарственных препаратов для медицинского применения, в том числе лекарственных препаратов для медицинского применения, назначаемых по решению врачебных комиссий медицинских организаций, перечня лекарственных препаратов, предназначенных для обеспечения лиц, больных гемофилией, муковисцидозом, гипофизарным нанизмом, болезнью Гоше, злокачественными новообразованиями лимфоидной, кроветворной и родственных им тканей, рассеянным склерозом, гемолитико-уремическим синдромом, юношеским артритом с системным началом, мукополисахаридозом I, II и VI типов, лиц после трансплантации органов и (или) тканей и минимального ассортимента лекарственных препаратов, необходимых для оказания медицинской помощи». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/563469457>

¹⁹ Федеральный закон от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/902312609>

²⁰ Федеральный закон от 5 апреля 2013 г. № 44-ФЗ «О контрактной системе в сфере закупок товаров, работ, услуг для обеспечения государственных и муниципальных нужд». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/499011838>

²¹ Отчеты DSM Group. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://dsm.ru/news-reports/?category=13>

потребности в ЭЛП, их доля в структуре общего обращения зарегистрированных ЛП составляет менее 0,4% [9].

Ретроспектива регулирующего воздействия на сегмент аптечного изготовления ЛП

На сегодняшний день прецизионная и трансляционная медицина считаются новой парадигмой здравоохранения. Однако индивидуальный подход к лечению заболеваний, учитывающий все факторы состояния здоровья конкретного человека, не является новым для России и находит свое отражение в трудах великих российских врачей и фармацевтов прошлого [34, 35]. Существует множество примеров ЛП, фармакокинетические профили которых различаются у детей и взрослых, что подчеркивает важность понимания детской физиологии и потенциального влияния на концентрацию ЛП [36]. Коррекция дозы проводится для обеспечения соответствующего внутреннего воздействия и фармакодинамических эффектов. Однако эти параметры зависят от конкретных свойств ЛП и онтогенеза соответствующих физиологических процессов у пациента. В обзоре [37] зарегистрированных клинических испытаний у детей сообщалось, что фармакокинетические данные собираются только в 24% всех проходящих испытаний, причем большинство из них проводится у детей в возрасте старше 2-х лет в Северной Америке. Потребность целого ряда групп населения в индивидуальных дозировках ЛП каждого государства делает невозможным их промышленное производство ввиду низкой рентабельности. Вместе с тем, фармакоэкономические преимущества аптечного изготовления ЛП в узкоспециализированных высокотратных нозологических единицах заболеваний (орфанные, онкологические ЛП и т.п.) говорит об одном – аптечное изготовление ЛП и промышленное производство ЛС дополняют друг друга, должны развиваться и совершенствоваться параллельно, при этом аптечное изготовление ЛП является универсальным инструментом каждого врача при фармакотерапии пациентов. Последний тезис понятен всем участникам рынка и прослеживается во всей научной литературе начиная с СССР и заканчивая нашим временем [1, 3].

За последние 20 лет сегмент аптечного изготовления ЛП прошел глобальную трансформацию в США и странах ЕС. В настоящее время невозможно рассматривать деятельность по изготовлению ЛП в отрыве от принципов и рекомендаций GMP. Так, в США организации, занимающиеся изготовлением ЛП разделены на два типа: аптеки (тип 503A) и аутсорсинговые предприятия (тип 503B), где первые должны обладать лицензией на фармацевтическую деятельность и соблюдать требования глав 795 и 797 Фармакопеи США, а вторые – пройти

сертификацию на соответствие правилам cGMP. При этом главы 795 и 797, в т.ч., содержат в себе имплементацию положений указанных правил. В ЕС действует Резолюция о требованиях к качеству и безопасности изготовления ЛП в АО для особых нужд пациентов, согласно которой Руководство по надлежащей производственной практике ЛП (PIC/S) рекомендуется использовать в качестве справочника при изготовлении группы «лекарственных препаратов с высоким риском», а Руководство по надлежащей практике изготовления ЛП (PIC/S) при изготовлении «лекарственных препаратов с низким уровнем риска». Последнее является адаптацией правил GMP под деятельность по изготовлению ЛП и включает в себя 9 основных глав GMP [1, 2, 11, 38].

В рамках политики СССР концепция качества производства ЛС строилась на постадийном (операционном) и финальном контроле качества готовой продукции. При этом главным приоритетом химико-фармацевтической промышленности СССР был объем выпущенной продукции. В такой итерации, с учетом интерпретации концепции GMP как «не более, чем модернизацию технических средств производства (зданий и оборудования)» [39] при отсутствии курса на экспорт ЛП (где соблюдение правил GMP является условием ввоза ЛС на территорию ЕС), со стороны отечественных производителей и регуляторов был выдвинут тезис о слишком высоких затратах по внедрению требований GMP на территории СССР. В Российской Федерации же последовательно были приняты: ОСТ 42-510-98²², ГОСТ Р 52249-2004²³, ГОСТ Р 52249-2009²⁴, представляющие из себя компиляцию разных правил GMP (ВОЗ, США, ЕС). Окончательный переход отечественной фармацевтической промышленности на правила GMP состоялся в 2013 году путем принятия приказа Минпромторга России от 14 июня 2013 г. № 916²⁵, который в целом соответствовал европейским GMP. Требование на соответствие указанным правилам стало обязательным с 2014 года [39–42]. С 2021 года российские производители ЛС должны соответствовать Правилам GMP ЕАЭС, при этом выдача национальных сертификатов прекращена [43].

²² Приказ Минздрава России и Минэкономики России от 3 декабря 1999 г. № 432/512 «О введении в действие Стандарта отрасли ОСТ 42-510-98 «Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств (GMP)». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://dokipedia.ru/document/5180069>

²³ Национальный стандарт РФ ГОСТ Р 52249-2004 «Правила производства и контроля качества лекарственных средств». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200071754>

²⁴ Национальный стандарт РФ ГОСТ Р 52249-2009 «Правила производства и контроля качества лекарственных средств». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200036160>

²⁵ Приказ Минпромторга России от 14 июня 2013 г. № 916 «Правила производства и контроля качества лекарственных средств». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/499029882>

Описанная проблематика перехода к требованиям GMP в Советском Союзе отразилась на аптечном изготовлении ЛП в РФ. До 1997 года действовали нормативные правовые требования к осуществлению такого вида деятельности, разработанные в СССР и, соответственно, содержащие в себе устаревшие подходы как к самим технологиям изготовления ЛП, так и к методам, методикам контроля их качества. Принятые в 1997 году нормативные документы, описывающие контроль качества ЭЛП²⁶, нормы отклонений при изготовлении ЭЛП²⁷, технологию изготовления жидких ЛФ²⁸, санитарный режим производственных аптек²⁹, качественно и количественно повторяли нормативные правовые документы, которые действовали в СССР, создавая дополнительные разночтения в отдельных своих положениях, что можно проследить в результате проведенного историко-технического анализа развития регулирования и изменения законодательства в области изготовления ЛП [1].

В последующие два десятилетия был принят ФЗ-61, одной из основных задач которого являлась гармонизация российского нормативного правового регулирования с международными принципами и стандартами, принятыми в отношении обращения ЛС [44]. С 2010 года начался процесс перехода к GxP, что на сегодняшний день отражено на следующих уровнях:

- доклинических исследований, которые регулируются Правилами надлежащей лабораторной практики (ст. 11 ФЗ-61) [45, 46];
- производства ЛС, которое регулируется Правилами GMP ЕАЭС (ст. 45 ФЗ-1);
- оптовой торговли ЛС, которая регулируется Правилами GDP ЕАЭС (ст. 54 ФЗ-61);
- розничной торговли ЛП, которая регулируется Правилами надлежащей аптечной практики (приказ № 647н, ст. 55 ФЗ-61).

В такой концепции нового регулирования рынка обращения ЛС, профессиональное сообщество ожидало дальнейшей имплементации принципов GxP в сегмент аптечного изготовления ЛП. Однако в 2015 году были приняты Правила изготовления и отпуска ЛП, утвержденные приказом Минздрава России от 26 октября 2015 г. № 751н (далее –

приказ № 751н)³⁰, где, с одной стороны, была предпринята попытка собрать в один документ существовавшие ранее приказы, методические рекомендации и указания, касающиеся изготовления ЛП в АО, а с другой стороны, осталась без внимания существующая мировая практика и подходы к процессам аптечного изготовления, контроля качества, изучения стабильности ЭЛП [1].

С 2010 года ст. 56 ФЗ-61 содержит запрет на изготовление зарегистрированных ЛП, что существенно ограничило деятельность АО и привело к сокращению количества производственных аптек во всех субъектах РФ. После принятия ФЗ-61, Росздравнадзором было опубликовано письмо³¹ относительно норм ст. 56 в котором указывалась ограниченная возможность обеспечения АО надлежащего уровня качества изготавливаемых ЛП, что послужило основной причиной введения ограничений на изготовление зарегистрированных ЛП. Однако, в очередной раз подтвержденные и полученные за прошедшее десятилетие результаты, позволяют с уверенностью говорить о том, что ЭЛП являются неотъемлемым элементом оказания медицинской помощи населению, а уровень развития технологических и инженерных систем позволяет обеспечивать надлежащий уровень качества ЭЛП, сопоставимый с требованиями GxP и процессов фармацевтических предприятий [1, 2].

Текущее состояние нормативного правового регулирования аптечного изготовления лекарственных препаратов в Российской Федерации

В 2019 году группой депутатов во главе с Фарраховым Айратом Закиевичем на рассмотрение Государственной Думой РФ был внесен проект Федерального закона № 798952-7 «О внесении изменений в ч. 2 ст. 56 Федерального закона «Об обращении лекарственных средств» (далее – Законопроект № 798952-7)³², который расширял полномочия производственных аптек, позволяя изготавливать ЛП из ГЛФ, а также устранял запрет на изготовление последних. Предложение Законопроекта № 798952-7 по устранению указанного ограничения обуславливалось необходимостью удовлетворения потребности

²⁶ Приказ Минздрава России от 16 июля 1997 г. № 214 «О контроле качества лекарственных средств, изготавливаемых в аптечных организациях (аптеках)». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/902062371>

²⁷ Приказ Минздрава России от 16 октября 1997 г. № 305 «О нормах отклонений, допустимых при изготовлении лекарственных средств и фасовке промышленной продукции в аптеках». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/901701705>

²⁸ Приказ Минздрава России от 21 октября 1997 г. № 308 «Об утверждении инструкции по изготовлению в аптеках жидких лекарственных форм». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/901702358>

²⁹ Приказ Минздрава России от 21 октября 1997 г. № 309 «Об утверждении Инструкции по санитарному режиму аптечных организаций (аптек)». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/901701706>

³⁰ Приказ Минздрава России от 26 октября 2015 г. № 751н «Об утверждении правил изготовления и отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/420313316>

³¹ Письмо Росздравнадзора от 1 июня 2010 г. № 04И-516/10 «О качестве инъекционных и инфузионных растворов аптечного изготовления». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/902218497>

³² Материалы к законопроекту № 798952-7 «О внесении изменений в часть 2 статьи 56 Федерального закона «Об обращении лекарственных средств». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://sozd.duma.gov.ru/bill/798952-7>

пациентов в индивидуальных дозировках ЛП, в т.ч. в сверхмалых, для удовлетворения потребностей педиатрической практики, и ЛП, зарегистрированных в ГРЛС, но временно отсутствующих на фармацевтическом рынке РФ, путем их изготовления в АО. В пояснительной записке к Законопроекту № 798952-7 также уточнялось, что установленный запрет привел к существенному уменьшению номенклатуры и количества изготавливаемых ЛФ, в том числе к массовому закрытию производственных аптек во всех регионах РФ. Законопроект № 798952-7 был принят 5 декабря 2022 года в виде Федерального закона от 5 декабря 2022 г. № 502-ФЗ «О внесении изменений в статью 56 Федерального закона «Об обращении лекарственных средств» (далее – ФЗ-502)³³ с датой начала вступления в силу 1 сентября 2023 года. Однако из него были исключены положения, которые снимали бы запрет на изготовление зарегистрированных ЛП [1].

В январе 2023 года была создана специализированная Рабочая группа по формированию единой системы нормативного правового регулирования деятельности в области изготовления ЛП при Комитете Государственной Думы по охране здоровья (далее – Рабочая группа), деятельность которой направлена на ускорение и подготовку к реализации норм ФЗ-502 в части изготовления ЛП и внесения необходимых поправок в подзаконные нормативные правовые документы.

В период с 28 марта по 7 апреля 2023 года, в соответствии с п. 4 протокола первого заседания Рабочей группы от 26 января 2023 г. № 1, был проведен мониторинг деятельности производственных аптек России [9], нацеленный на выявление ключевых инфраструктурных, технологических и кадровых характеристик сегмента производственных аптек. По состоянию на 28 марта 2023 года, правом на изготовление ЛП обладали 1019 юридических лиц и индивидуальных предпринимателей, осуществляющих свою деятельность по 1378 адресам. Исследование проведено в рамках выборки, представленной Государственной Думой, в структуру которой вошло 643 адреса по месту осуществления фармацевтической деятельности составило, что в целом, составляло 46,7% от всего количества адресов осуществления деятельности по изготовлению и отпуску ЛП.

По итогам опроса АО было установлено, что часть производственных аптек – 17 из 47 (7,3%) прекратили свою деятельность в период с 2015 по 2019 гг. Больше всего таких организаций оказалось в Дальневосточном федеральном округе (35,3%), Центральном федеральном округе (26,9%) и на

территории Северного Кавказа (22,2%). Респонденты отмечали, что основными факторами, повлиявшими на данное решение стали:

- отсутствие спроса на изготавливаемые препараты в рамках региональных программ государственных гарантий как за счет средств обязательного медицинского страхования, так и средств льготного лекарственного обеспечения;

- устаревшая инфраструктура, отсутствие должного оснащения технологическим, аналитическим, инженерным оборудованием и отсутствие финансовых мер государственной поддержки;

- проблемы при заключении и исполнении контрактов на оказание услуг (работ) по изготовлению ЛП и внутриаптечной фасовке зарегистрированных ЛП в рамках законодательства о контрактной системе в сфере закупок (ФЗ-44);

- практически полная номенклатурная (физическая) и ценовая недоступность субстанций, вспомогательных веществ в малых фасовках, включая отсутствие ряда необходимого сырья.

В результате мониторинга установлена, что общая площадь всех опрошенных респондентов аптек составила 36 282 м², из которых 8 149 м² приходилось на «Ассистентскую» (производственное помещение) и 4 760 м² на «Асептический бокс» (чистые помещения). Экстраполяция результатов показала, что общее количество производственных мощностей, которые нуждаются в реконструкции, составляет более 140 тыс. м². В данном исследовании также приведена статистика относительно классификации аптек на розничные субъекты и больничные аптеки, показано распределение по перечню оказываемых услуг (работ), составляющих фармацевтическую деятельность с правом изготовления и отпуска ЛП, затронут вопрос структуры фармацевтических работников, который выявил острый дефицит провизоров-аналитиков и/или провизоров-технологов, что свидетельствует о высоких рисках приостановки деятельности в любое время. Результаты исследования продемонстрировали и подтвердили «традиционные» [1, 2, 9–11] проблемы производственных аптек, накопленные на протяжении длительного периода времени, а именно с момента образования Российской Федерации.

В рамках настоящего исследования нельзя не остановиться на требованиях, выставляемых к помещениям производственных аптек, где в соответствии с СанПиН 2.1.3678-20:

- аптека должна размещаться в изолированном блоке помещений в многоквартирных домах, общественных зданиях или в отдельно стоящих зданиях;

- помещения аптек должны иметь естественное и искусственное освещение. Естественное освещение может отсутствовать в складских помещениях (без

³³ Федеральный закон от 5 декабря 2022 г. № 502-ФЗ «О внесении изменений в статью 56 Федерального закона «Об обращении лекарственных средств». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1300131660>

постоянного рабочего места), кладовых, туалетах, гардеробных, душевых, бытовых и вспомогательных помещениях;

- помещения асептического блока оборудуются системой вентиляции с преобладанием притока над вытяжкой. Подача чистого воздуха осуществляется ламинарными потоками;

- помещения аптек должны подвергаться ежедневной влажной уборке с применением моющих и дезинфицирующих средств. Аптеки должны быть обеспечены запасом на 3 дня моющими и дезинфицирующими средствами, который рассчитывается с учетом площади обрабатываемых поверхностей, количества обрабатываемого оборудования, наличием хозяйственного инвентаря для обеспечения санитарного режима;

- уборка всех помещений с обработкой стен, полов, оборудования, инвентаря, светильников с применением моющих и дезинфицирующих средств, проводится не реже 1 раза в месяц, а в помещениях изготовления лекарственных средств в асептических условиях – еженедельно.

Кроме того, для производственных аптек установлены требования к микробиологической чистоте воздуха. Одновременно отсутствуют какие-либо нормы, регулирующие содержание максимально допустимого количества частиц в воздухе, при этом класс А микробиологической чистоты СанПиН 2.1.3678-20 равен классу D Правил GMP ЕАЭС (табл. 1).

Финальная схема подчиненности производственных аптек основным руководящим документам представлена на рисунке 7.

В мае 2023 года был подписан приказ № 249н где с одной стороны, удалось частично отобразить и заложить основы для развития системы обеспечения качества АО, однако, с другой стороны, не удалось решить задачи по совершенствованию порядка деятельности производственных аптек на уровне развитых систем здравоохранения, где не был устранен ряд существенных и ограничений приказа № 751н, а именно:

- списочный принцип формирования номенклатуры, который ограничивает возможности осуществления разработки новых рецептур производственными аптеками;

- отсутствие возможности АО самостоятельно определять сроки годности путем проведения исследований стабильности ЭЛП;

- по тексту приказа описаны существенные общие технологические ограничения, связанные с прямыми указаниями на конкретную технологию изготовления ЛФ или использование конкретного, зачастую не подлежащего квалификации, оборудования, что ограничивает возможности для проведения самостоятельной разработки технологий изготовления и методик контроля качества ЭЛП производственными аптеками;

- отсутствие принципов, методов и

инструментов валидации, что не позволяет производственным аптекам осуществлять научно-исследовательские и опытно-конструкторские работы, тем самым нивелируется кооперация с научно-исследовательскими и образовательными организациями, в том числе при внедрении полученных ими результатов исследований и разработок (трансфер технологий);

- приказ содержит избыточные требования по «сплошному» контролю качества изготавливаемых ЛП на всех этапах процесса изготовления, что не соответствует международной практике регулирования, опыту при реализации принципов надлежащих аптечных практик, и в целом будет являться ключевым фактором отрицательной рентабельности при аптечном изготовлении ЛП;

- приказ включает в себя требования по контролю качества выше, чем для производителей ЛС. Так, например, при изготовлении одного инъекционного или инфузионного раствора одинаковой дозировки и фасовки, в количестве 2 (двух) единиц (доз), производственная аптека должна провести исследование на стерильность и испытание на пирогенность или бактериальные эндотоксины, что в совокупности будет стоить более 6 000 руб. (80 долл. на дату сдачи рукописи в печать), одновременно, производственная аптека будет вынуждена изготовить третью единицу раствора, которая и будет отправлена на анализ.

На сегодняшний день для осуществления деятельности по восстановлению (разведению) ЛП [47–49] не установлены какие-либо требования или правила, что реализуется в МО без процедуры лицензирования. Единственным упоминанием об указанной деятельности является требование³⁴ о наличии в МО, оказывающих медицинскую помощь по профилю «Онкология» – ламинарной камеры для стерильного разведения ЛП в виде собственно ламинарного бокса или бокса биологической безопасности 2 класса, что существенно отличается от подходов учреждений здравоохранения к работе с высокоопасными ЛП в развитых системах здравоохранения [1], а также увеличивает риски токсического воздействия на медицинских и фармацевтических работников.

В рамках 3-го заседания Рабочей группы состоявшегося 29 июня 2023 года, отмечалась актуальность и востребованность ЭЛП в сегментах онкологии, педиатрии, орфанных и других заболеваний. Особо подчеркивалась значимость развития деятельности производственных аптек в части внутриаптечной фасовки зарегистрированных ЛП, а также целесообразность перехода от правил изготовления и отпуска лекарственных препаратов перехода (советской системы регулирования) к

³⁴ Приказ Минздрава России от 19 февраля 2021 г. № 116н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи взрослому населению при онкологических заболеваниях». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/573956757>

Правилам надлежащей практики изготовления ЛП (современной системы регулирования).

В августе 2023 года завершилась работа по подготовке Государственной фармакопеи РФ XV издания, а также выработка необходимых общих фармакопейных статей в области изготовления ЛП в сроки, согласованные с Минздравом России. Для целей повышения эффективности процессов их подготовки и принятия была создана отдельная экспертная секция стандартизации ЛП аптечного изготовления при Институте фармакопеи и стандартизации в сфере обращения лекарственных средств Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (далее – ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России) [50], подведомственного Минздраву России.

С точки зрения бюджетной государственной политики развитие современной аптечной инфраструктуры в области изготовления ЛП на территории РФ будет способствовать повышению эффективности расходов всех уровней системы здравоохранения. Целью оптимизации расходов на лекарственное обеспечение является компенсация за фактический объем ЛП, необходимого для конкретного пациента в единицу времени. Медико-экономические стандарты и расчеты за оказание медицинской помощи как в рамках программы государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи, так и за счет собственных средств граждан должны ориентироваться на принятые в международной практике методы учета затрат в рамках курсовой, дневной или годовой потребности в ЛП [1, 11].

Производственные аптеки, как элемент инфраструктуры здравоохранения, в том числе имеют ключевое значение для оптимизации бюджетных затрат в части снижения уровня товарных остатков ЛП. В частности, результаты анализа данных реализации федерального проекта «Борьба с сердечно-сосудистыми заболеваниями», проведенного Счетной палатой РФ по итогам 2022 года, показывает высокий уровень товарных остатков ЛП предназначенных для обеспечения лиц, перенесших инсульт или инфаркт³⁵. Так, на 1 января 2022 года в 54 регионах уровень таких остатков по ряду ЛП превысил 24 мес (при их 2–3 годичном сроке годности для указанной категории пациентов), в отчете указывается на риск потенциального списания ЛП на общую сумму 4 671,6 млн рублей в связи с истечением их срока годности. Последнее воплотилось в реальность, с начала 2022 года по май 2023 года ГКУЗ ВО «Центр по осуществлению закупок товаров, работ и услуг в сфере здравоохранения Владимирской области» в связи с истечением

сроков годности списало ЛП на общую сумму 58,6 млн рублей, из них 32,1 млн рублей пришлось на ЛП закупленные в рамках регионального проекта «Борьба с сердечно-сосудистыми заболеваниями»³⁶. Описанное свидетельствует о необходимости повышения эффективности использования средств бюджетов любого уровня, выделяемых на закупку ЛП, в решении данного вопроса особую значимость будет иметь развитие деятельности производственных аптек в области индивидуальной внутриаптечной фасовки зарегистрированных ЛП, реализация которой обеспечит модернизацию системы учета от упаковок к учету курсовых доз, устранив перерасход средств бюджетов в рамках текущей системы лекарственного обеспечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целях обеспечения условий для развития в России конкурентоспособной, устойчивой и структурно сбалансированной промышленности, в 2014 году Правительством РФ была утверждена государственная программа «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности», которая позволила за последующие 10 лет создать необходимый уровень материально технической базы для осуществления стадий производства ГЛФ по 82% в рамках Перечня ЖНВЛП. В Стратегии развития фармацевтической промышленности РФ на период до 2030 года (далее – Стратегия), утвержденной распоряжением Правительства РФ от 7 июня 2023 г. № 1495-р, особо подчеркивается тесная взаимосвязь фармацевтических производителей и производственных аптек, которая заключается в единстве принципов, основанных на максимально возможном удовлетворении потребностей системы здравоохранения и обеспечении бесперебойного доступа граждан РФ к необходимой номенклатуре ЛП. В частности, в разделе 3 Стратегии установлены приоритеты ее реализации, к которым отнесены (включая, но не ограничиваясь): развитие технологий генной и таргетной терапии, новых методов лечения, в том числе с применением биомедицинских клеточных продуктов; разработка, внедрение и применение новых медицинских технологий и ЛС в соответствии со Стратегией развития здравоохранения в Российской Федерации.

В качестве одного из основных направлений реализации Стратегии, изложенного в разделе 4 Стратегии «Основные направления реализации Стратегии», отмечается создание предпосылок для развития сегмента персонализированной терапии, новых методов лечения, стимулирующих развитие условий для осуществления локализации производства востребованных ЛС в случае ограниченности предложения на национальном фармацевтическом рынке, а также выстраивания стабильных логистических

³⁵ Счетная палата Российской Федерации. Приложение № 4 к отчету о работе Счетной палаты Российской Федерации в 2022 году «Отчет о работе направления аудита здравоохранения и спорта Счетной палаты Российской Федерации в 2022 году». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://ach.gov.ru/reports/report_2022

³⁶ Федеральный проект «Борьба с сердечно-сосудистыми заболеваниями». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://minzdrav.gov.ru/poleznye-resursy/natsproektzdravoohranenie/bssz>

цепочек в целях обеспечения физической и экономической доступности ЛП. С точки зрения подготовки научных, технологических и производственных кадров для российской фармацевтической отрасли, подразделом 9 раздела 4 Стратегии «Основные направления реализации Стратегии» также отмечается необходимость реализации мер, направленных на дальнейшее развитие компетенций в области разработки ЛП, предназначенных для лечения социально значимых заболеваний, преобладающих в структуре заболеваемости и смертности населения РФ, а также заболеваний, представляющих опасность для окружающих, в том числе в аптечных условиях, с использованием полупромышленного оборудования и производственной фасовки АФС в малых дозах. Основой дальнейшего развития фармацевтической отрасли, в т.ч. развития производственных аптек и внедрения методов персонализированной медицины, является расширение и обеспечение доступа фармацевтической инфраструктуры к исходному сырью – АФС (особенно в малых фасовках), вспомогательным веществам фармацевтического качества, реактивам, упаковочным, укупорочным и другим расходным материалам, которые применяются как при производстве ЛС, так и при изготовлении ЛП.

Принимая во внимание существующие предпосылки в развитии сегмента аптечного изготовления ЛП, а именно принятие ФЗ-502, Стратегии, создание профильной Рабочей группы и отдельной экспертной секции стандартизации ЛП аптечного изготовления при ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, а также понимая, что потребность в персонализации фармакотерапии вряд ли снизится

в ближайшем будущем, при одновременном перманентном нарастании финансовой нагрузки на все бюджеты системы здравоохранения, дальнейшим важнейшим шагом развития производственных аптек будет являться формирование единой гармонизированной системы нормативного правового регулирования обращения ЭЛП. Основная концепция необходимых мероприятий по развитию современной аптечной инфраструктуры в РФ, с учетом опыта мировых системы здравоохранения, предполагает, что текущая система регулирования производственных аптек будет фундаментально переосмыслена, усовершенствована и доработана, где ключевыми законодательными инициативами на федеральном уровне должны выступать:

1. Изменения вносимые в ФЗ-323 в частях расширения возможностей применения ЭЛП и включения их в клинические рекомендации, а также в Федеральный закон от 29 ноября 2010 г. № 326-ФЗ «Об обязательном медицинском страховании в Российской Федерации» о структуре тарифа базовой программы обязательного медицинского страхования, путем его дополнения нормами об использовании МО услуг (работ) по изготовлению ЛП и фасовке зарегистрированных ЛП производственными аптеками.

2. Изменения вносимые в ФЗ-61 (включая, но не ограничиваясь) в части перехода с правил изготовления и отпуска ЛП на правила надлежащей практики изготовления и отпуска на ЛП, тем самым достигая целей по достраиванию концепции GxP в законодательстве об обращении ЛС в Российской Федерации, а также по обеспечению качества, безопасности и эффективности ЭЛП включая процессы внутриаптечной фасовки зарегистрированных ЛП.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы сделали эквивалентный и равнозначный вклад в подготовку публикации. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Основы формирования единой гармонизированной системы нормативного правового регулирования в области обращения лекарственных препаратов, изготавливаемых аптечными организациями: Монография / И.А. Наркевич, В.С. Фисенко, З.М. Голант, Д.С. Юрочкин, Д.Д. Мамедов, С.Э. Эрдни-Гаряев, А.А. Лешкевич. – СПб.: Медиапир, 2023. – 292 с.
2. Мамедов Д.Д., Юрочкин Д.С., Лешкевич А.А., Эрдни-Гаряев С.Э., Голант З.М., Наркевич И.А. Нормативное правовое регулирование изготовления лекарственных препаратов аптечными организациями: опыт североамериканского фармацевтического рынка // Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. – 2023. – Т. 16, № 1. – С. 80–86. DOI: 10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2022.155
3. Петрище Т.Л. Израиль Ионасович Левинштейн (1883–1972) – Организатор фармации, фармацевтического образования и науки в 1920-е гг. (к 130-летию со дня рождения) // Вестник фармации. – 2013. – № 4 (62). – С. 93–98.
4. Higby G.J. The continuing evolution of American pharmacy practice, 1952–2002 // J Am Pharm Assoc. – 2002. – Vol. 42, No. 1. – P. 12–15. DOI: 10.1331/108658002763538017
5. Minghetti P., Pantano D., Gennari C.G., Casiraghi A. Regulatory framework of pharmaceutical compounding

- and actual developments of legislation in Europe // *Health Policy*. – 2014. – Vol. 117, No. 3. – P. 328–333.
6. Fink J.L. 3rd. Compounding versus manufacturing in pharmacy practice: a regulatory challenge // *J Pharm Pract.* – 1995. – Vol. 8, No. 3. – P. 103–114. DOI: 10.1177/089719009500800304
 7. Кудряшов К.В., Санькова А.А. Проблемы реализации конституционного права граждан РФ на получение ими бесплатной медицинской помощи // *Концепт*. – 2019, № 9. – С. 1–9. DOI: 10.24411/2304-120X-2019-13056
 8. Мантуров Д.В. Промышленная политика в российской фармацевтической отрасли // *Экономическая политика*. – 2018. – Т. 13, № 2. – С. 64–77.
 9. Фисенко В.С., Фаррахов А.З., Соломатина Т.В., АLEXIN А.В., Юрочкин Д.С., Эрдни-Гаряев С.Э., Мамедов Д.Д., Голант З.М. Мониторинг производственных аптек в Российской Федерации // *Вестник Росздравнадзора*. – 2023. – № 3. – С. 22–33.
 10. Фисенко В.С., Соломатина Т.В., Фаррахов А.З., Юрочкин Д.С., Мамедов Д.Д., Голант З.М. Анализ условий и выработка путей совершенствования системы подготовки фармацевтических и медицинских работников, направленных на развитие потенциала деятельности производственных аптек в Российской Федерации // *Вестник Росздравнадзора*. – 2023. – № 4. – С. 29–42.
 11. Наркевич И.А., Голант З.М., Юрочкин Д.С., Лешкевич А.А., Эрдни-Гаряев С.Э. Разработка предложений по совершенствованию процессов обращения экстремальных лекарственных препаратов и регулирования рецептурно-производственной деятельности аптечных организаций в Российской Федерации // *Ремедиум*. – 2021. – № 4. – С. 14–29. DOI: 10.32687/1561-5936-2021-25-4-14-29
 12. Фисенко В.С., Фаррахов А.З., Мамедов Д.Д., Юрочкин Д.С., Голант З.М., Наркевич И.А. Обзор судебной практики в отношении государственных закупок экстремальных лекарственных препаратов за 2012–2022 годы // *Вестник Росздравнадзора*. – 2023. – № 5. – С. 19–30.
 13. Семенов В.И., Гаврилова Е.Б., Лысков Н.Б. Патентование лекарственных средств и государственная регистрация лекарственных препаратов: подводные камни // *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. – 2015. – № 4. – С. 43–46.
 14. Нестеренко И.А. Административная процедура государственной регистрации лекарственных средств для медицинского применения: понятие и структура // *Вопросы современной юриспруденции*: сб. ст. по матер. XXX междунар. науч.-практ. конф. № 10(30). – Новосибирск: СибАК, 2013. – С. 6–12.
 15. Миронов А.Н., Дигтярь А.В., Сакаева И.В., Кошечкин К.А. Государственный реестр лекарственных средств для медицинского применения ретроспективный анализ, актуальное состояние и совершенствование требований (аналитический обзор законодательства) // *Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*. – 2011. – Т. 4, № 2. – С. 13–17.
 16. Соловьев К.С. Разграничение производства лекарственных средств и фармацевтической деятельности // *Актуальные проблемы российского права*. – 2019. – № 3. – С. 134–141. DOI: 10.17803/1994-1471.2019.100.3.134-141
 17. Жданова К.В. Проблемы реализации программы импортозамещения лекарств в России // *Российский внешнеэкономический вестник*. – 2015. – № 10. – С. 126–132.
 18. Мешковский А.П. Роль инспектирования производителей лекарственных средств на соответствие надлежащей производственной практике в обеспечении качества лекарственных препаратов на рынке // *Медицинские технологии. Оценка и выбор*. – 2016. – № 1 (23). – С. 81–88.
 19. Яковлева Е.В. Надлежащая дистрибьюторская практика: модернизация системы качества дистрибьюции лекарственных средств в России // *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. – 2018. – Т. 8. – № 1. – С. 36–43. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-36-43. Russian
 20. Ковалев В.А. Роль Росздравнадзора в обеспечении контроля качества изделий медицинского назначения и лекарственных препаратов на общенациональном уровне при реализации национального проекта «Здоровье» // *Проблемы управления здравоохранением*. – 2009. – № 3. – С. 10–13.
 21. Гунба А.М. Регулирование дистанционной продажи лекарственных продуктов в Российской Федерации // *Новизна. Эксперимент. Традиции*. – 2023. – Т. 9. – № 1 (21). – С. 6–12.
 22. Дриго А.Е., Лаврентьева Л.И., Желтkevич О.В., Корчкова Н.В. Актуальные вопросы систематизации фармацевтических организаций // *Ремедиум*. – 2020. – № 11–12. – С. 55–60. DOI: 10.21518/1561-5936-2020-10-55-60
 23. Koshida I., Kubota K., Yamashita M., Katayanagi H., Noda K., Terada H., Yoshioka S., Sekine N., Kameda T., Terada K. [Role of pharmaceutical company pharmacist in provision of drug information for cancer chemotherapy] // *Gan To Kagaku Ryoho*. – 2009. – Vol. 36, No. 4. – P. 687–691.
 24. Титов Д.С., Якушева Е.Н., Новикова Ю.Э., Майстренко М.А., Улитёнок Е.Э. Изменения в порядке оформления и обращения рецептов в Российской Федерации // *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. – 2022. – Т. 30, № 3. – С. 423–430. DOI: 10.17816/PAVLOVJ89996
 25. Кабанова И.А., Лебедев Д.А. Порядок назначения лекарственных препаратов: все изменения // *Современные проблемы естественных наук и фармации: сб. ст. Всеросс. науч. конф. (Йошкар-Ола, 16–20 мая 2022 г.) / Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет»*. – Йошкар-Ола: Марийский гос. ун-т, 2022. – Вып. 11. – С. 318–321.
 26. Современные проблемы естественных наук и фармации: сб. ст. Всеросс. науч. конф. (Йошкар-Ола, 16–20 мая 2022 г.) / Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет» – Йошкар-Ола: Марийский гос. ун-т, 2022. – Вып. 11. – С. 292–295.
 27. Гаврилюк Р.В., Носаненко Г.Ю., Гаврилюк А.Р. Право граждан на охрану здоровья // *Интеллектуальный потенциал образовательной организации и социально-экономическое развитие региона: сборник материалов международной научно-практической конференции Академии МУБиНТ*. – Ярославль: Образовательная организация высшего образования (частное учреждение) «Международная академия бизнеса и новых технологий (МУБиНТ)», 2018. – С. 30–32.
 28. Капралова Е.В., Сергеева Е.С. Конституционное право граждан на охрану здоровья: его содержание и законодательное обеспечение // *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского*. – 2011. – № 1. – С. 295–302.
 29. Руденков И.В. Первый советский нарком здравоохранения Николай Семашко – основоположник

- образцовой системы медицинских учреждений // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2015. – № 2 (114). – С. 119–123.
30. Копытин Д.А. Государственное регулирование цен на лекарственные препараты: поиск баланса // Ремедиум. – 2018. – № 1–2. – С. 8–14.
31. Куряева Ю.С. Фонд обязательного медицинского страхования-гарант получения медицинской помощи населением России // Державинские чтения: сб. матер. XXIV Всерос. науч. конф. (Тамбов, 24 апреля 2019 года). Ответственный редактор: Я.Ю. Радюкова. – Изд-во: Тамбовский государственный университет имени Г.Р. Державина (Тамбов). – 2019. – С. 52–61.
32. Лазарова Л.Б., Дадьянова М.С. Фонды обязательного медицинского страхования, их роль в финансировании расходов на здравоохранение // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 2-2. – С. 457–457.
33. Акафьева Т.И., Землянова М.А. Анализ фармацевтического рынка Российской Федерации // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. – 2013. – № 1. – С. 63–66.
34. Карпов О.Э., Никитенко Д.Н., Третьяков В.В., Нуштаева Е.М. Правовое регулирование закупок лекарственных препаратов: проблемы исполнения контракта и особенности ведения претензионно-исковой работы // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. – 2019. – Т. 14. – № 2. – С. 75–81. DOI: 10.25881/BPNMSC.2019.40.15.017
35. Мокрышева Н.Г., Мельниченко Г.А. Персонализированная медицина – этапы формирования концепции и пути практической ее реализации // Российский журнал персонализированной медицины. – 2021. – Т. 1, № 1. – С. 43–58.
36. Batchelor H.K., Marriott J.F. Paediatric pharmacokinetics: key considerations // Br J Clin Pharmacol. – 2015. – Vol. 79, No. 3. – P. 395–404. DOI: 10.1111/bcp.12267
37. Viergever R.F., Rademaker C.M.A., Ghersi D. Pharmacokinetic research in children: an analysis of registered records of clinical trials // BMJ open. – 2011. – Vol. 1, No. 1. – Art. ID: e000221. DOI: 10.1136/bmjopen-2011-000221
38. Кугач В. В. Аптечное изготовление и контроль качества лекарственных средств за рубежом // Вестник фармации. – 2021. – № 2 (92). – С. 64–79. DOI: 10.52540/2074-9457.2021.2.64
39. Мешковский А.П., Аладышева Ж.И., Пятигорская Н.В., Сапожникова Э.А., Пичугин В.В. К 50-летию GMP: из истории правил GMP (сообщение первое) // Ремедиум. – 2013. – № 2. – С. 32–39.
40. Препьялов А. Внедрение стандарта GMP в Российской Федерации: обратная сторона медали // Ремедиум. – 2010. – № 5. – С. 34–37.
41. Федотов А.Е. GMP в России – быть! // Медицинский алфавит. – 2012. – Т. 4, № 22. – С. 32–34.
42. Трофимова Е. О. К вопросу о переходе на стандарты GMP // Ремедиум. – 2014. – № 3. – С. 25–27.
43. Басевич А.В., Каухова И.Е., Кодаш А.А., Биткина Т.А., Смирнова Е.М., Степченков В.И. Внедрение и поддержание системами контроля PIC/S и ЕАЭС гармонизированных стандартов GMP качества производства стерильных лекарственных средств // Формулы Фармации. – 2020. – Т. 2, № 2. – С. 8–19. DOI: 10.17816/phf33976
44. Одабашян А. Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» – наиболее значимые положения // Ремедиум. – 2010. – № 6. – С. 44–47.
45. Вельц Н.Ю., Аляутдин Р.Н., Казаков А.С., Букатина Т.М., Дармостукова М.А. Правила надлежащей лабораторной практики // Безопасность и риск фармакотерапии. – 2016. – № 1. – С. 28–32.
46. Шевченко А.Б. Внедрение стандартов GCP-надлежащей клинической практики // Главврач. – 2018. – № 1. – С. 33–36.
47. Чернобровкина А.Е. Особенности и преимущества организации кабинета централизованного разведения цитостатиков в многопрофильном онкологическом стационаре // Medline.ru. – 2018. – Т. 19. – С. 1245–1253.
48. Измайлов А.А., Аюпов Р.Т., Рахимов Р.Р., Липатов О.Н., Султанбаев А.В., Меньшиков К.В. Первый опыт работы кабинета централизованного разведения химиотерапевтических препаратов ГАУЗ РКОД Минздрава РБ // Поволжский онкологический вестник. – 2023. – Т. 14, № 1(53). – С. 86–91. DOI: 10.32000/2078-1466-2023-1-86-91
49. Каримова А.А., Чусовитина А.О., Петкау В.В. Возможности оптимизации затрат на лекарственное обеспечение пациентов за счет централизованного разведения противоопухолевых лекарственных препаратов // Медико-фармацевтический журнал Пульс. – 2023. – Т. 25, № 7. – С. 26–32. DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2023-25-7-26-32
50. Миронов А.Н. Основные направления деятельности и перспективы развития федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2011. – № 1. – С. 4–10.

АВТОРЫ

Мамедов Деви Девивич – младший научный сотрудник лаборатории регуляторных отношений и надлежащих практик ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-5061-0729. E-mail: devi.mamedov@mail.ru

Юрочкин Дмитрий Сергеевич – заместитель заведующего лаборатории регуляторных отношений и надлежащих практик ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-4609-0155. E-mail: dmitry.yurochkin@pharminnotech.com

Голант Захар Михайлович – кандидат экономических наук, заведующий лабораторией регуляторных отношений и надлежащих практик ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-0256-6692. E-mail: zgolant@gmail.com

Фисенко Виктор Сергеевич – кандидат фармацевтических наук, первый заместитель Министра здравоохранения Российской Федерации. ORCID ID: 0009-0002-0918-737X. E-mail: fisenkovs@minzdrav.gov.ru

Алехин Алексей Викторович – президент акционерного общества «АЛТАЙВИТАМИНЫ», ассистент кафедры БМТ-3 «Биомедицинская безопасность» МГТУ ИМ. Н. Э. Баумана. ORCID ID: 0009-0003-5882-8994. E-mail: alekhin.a@altayvitamin.ru

Наркевич Игорь Анатольевич – доктор фармацевтических наук, профессор, ректор ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-5483-6626. E-mail: igor.narkevich@pharminnotech.com

УДК: 615.02:615.1/4



Обзор лекарственных средств, одобренных FDA в 2022 году

Д.В. Куркин^{1,2}, Е.И. Морковин², Д.А. Бакулин², Ю.В. Горбунова², Ю.А. Колосов¹,
М.А. Джавахян^{1,3}, И.Е. Макаренко^{1,4}, Р.В. Драй⁴, А.В. Заборовский¹, О.В. Шаталова²,
А.В. Стрыгин², В.И. Петров², А.П. Плетень¹, А.А. Прокопов¹, Т.Ю. Татаренко-Козмина¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127473, Россия, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20/1

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1

³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ВИЛАР), 117216, Россия, г. Москва, ул. Грина, д. 7

⁴ Закрытое акционерное общество «Фарм-Холдинг», 198515, Россия, г. Санкт-Петербург, пос. Стрельна, ул. Связи, д. 34-А

E-mail: strannik986@mail.ru

Получена 20.05.2023

После рецензирования 30.07.2023

Принята к печати 15.08.2023

Цель. Анализ актуальных тенденций зарубежной практики в области разработки и регистрации лекарственных препаратов.

Материалы и методы. При поиске материала для написания обзорной статьи использовали реферативные базы данных PubMed, Google Scholar и e-library.ru. Поиск осуществляли по публикациям за период с 2008 по 2023 год, с использованием следующих ключевых слов: «new drug approval», «NDA», «drug authorization», «approval package», «breakthrough medicine».

Результаты. Открытие и разработка лекарственных средств являются одними из наиболее важных научных направлений в здравоохранении. Разработка нового препарата – очень сложный, дорогой и длительный процесс. Как снизить затраты и ускорить открытие новых лекарств? Этот вопрос является особенно актуальным на сегодняшний день. Для оптимизации процесса поиска активных соединений используются виртуальный и высокопроизводительный скрининг, машинное обучение, искусственный интеллект, криоэлектронная микроскопия, а также перепрофилирование существующих лекарственных средств. В то же время продолжается поиск оригинальных молекул для разработки на их основе инновационных препаратов. В данной статье представлен обзор лекарственных средств, одобренных в 2022 году Food and Drug Administration (FDA), для лечения различных патологий.

Заключение. Разработка лекарств представляет собой сложный и ресурсоемкий процесс, при котором лишь небольшая часть кандидатов доходит до клинических испытаний. Дизайн лекарств развивается вместе с потребностями общества, и в этом обзоре освещаются некоторые из препаратов, одобренных FDA в 2022 году. Ожидается, что технологические достижения ускорят разработку лекарств, потенциально сокращая время их выхода на рынок. Биотехнология, включая клеточную терапию, имеет большие перспективы, а достижения в области генетического картирования и технологий чипов повысят доступность персонализированной фармакологии.

Ключевые слова: Food and Drug Administration; FDA; биофармацевтика; моноклональные антитела; тенденции лекарственного дизайна

Список сокращений: ADMET – абсорбция, распределение, метаболизм, экскреция и токсичность; AI – искусственный интеллект; Ang2 – ангиопозитин 2; ANN – искусственные нейронные сети; CALD – церебральная адренолейкодистрофия; CNN – сверточные нейронные сети; cryo-EM – криоэлектронная микроскопия; CСЗ – сердечно-сосудистые заболевания; DL – глубокое обучение; EMA – Европейское агентство по лекарственным средствам; FBS – фрагментарный скрининг; HTS – высокопроизводительный скрининг; FDA – Управление по контролю за продуктами и лекарствами; ГИП –

Для цитирования: Д.В. Куркин, Е.И. Морковин, Д.А. Бакулин, Ю.В. Горбунова, Ю.А. Колосов, М.А. Джавахян, И.Е. Макаренко, Р.В. Драй, А.В. Заборовский, О.В. Шаталова, А.В. Стрыгин, В.И. Петров, А.П. Плетень, А.А. Прокопов, Т.Ю. Татаренко-Козмина. Обзор лекарственных средств, одобренных FDA в 2022 году. *Фармация и фармакология*. 2023;11(3):193-210. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-3-193-210

© Д.В. Куркин, Е.И. Морковин, Д.А. Бакулин, Ю.В. Горбунова, Ю.А. Колосов, М.А. Джавахян, И.Е. Макаренко, Р.В. Драй, А.В. Заборовский, О.В. Шаталова, А.В. Стрыгин, В.И. Петров, А.П. Плетень, А.А. Прокопов, Т.Ю. Татаренко-Козмина, 2023

For citation: D.V. Kurkin, E.I. Morkovin, D.A. Bakulin, Yu.V. Gorbunova, Yu.A. Kolosov, M.A. Dzhavakhyan, I.E. Makarenko, R.V. Drai, A.V. Zaborovsky, O.V. Shatalova, A.V. Strygin, V.I. Petrov, A.P. Pleten, A.A. Prokopov, T.Yu. Tatarenko-Kozmina. Overview of drugs approved by the FDA in 2022. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(3):193-210. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-3-193-210

глюкозозависимый инсулиноотропный полипептид; ГПП-1 – глюкагоноподобный пептид-1; IL – интерлейкин; ISMC – Международный симпозиум по медицинской химии; JAK1 – янус-киназа-1; LDA – линейный дискриминантный анализ; MHRA – Агентство по регулированию лекарственных средств и товаров медицинского назначения; ML – машинное обучение; MLP – сеть многослойного персептрона; NME – новые молекулярные соединения; NYHA – Нью-Йоркская кардиологическая ассоциация; PD-1 – рецептор программируемой смерти клеток 1; PDB – Банк данных белков; QSAR – количественное соотношение структура-активность; RF – метод случайного леса; RNN – рекуррентные нейронные сети; SBDD – структура-зависимое исследование лекарственных препаратов; SVM – метод опорных векторов; TSLP – стромальный лимфопоэтин тимуса; VEGF – фактор роста эндотелия сосудов; VLCFAs – жирные кислоты с очень длинной цепью; ЛС – лекарственное средство; НИОКР – научно-исследовательские и опытно-конструкторские работы; ЦНС – центральная нервная система; КИ – клинические исследования.

Overview of drugs approved by the FDA in 2022

D.V. Kurkin^{1,2}, E.I. Morkovin², D.A. Bakulin², Yu.V. Gorbunova², Yu.A. Kolosov¹,
M.A. Dzhevakhyan^{1,3}, I.E. Makarenko^{1,4}, R.V. Drai⁴, A.V. Zaborovsky¹, O.V. Shatalova²,
A.V. Strygin², V.I. Petrov², A.P. Pleten¹, A.A. Prokopov¹, T.Yu. Tatarenko-Kozmina¹

¹ Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry,
Bld. 1, 20, Delegatskaya Str., Moscow, Russia, 127473

² Volgograd State Medical University,
1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

³ All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants,
7, Grin Str., Moscow, Russia, 117216

⁴ Farm-Holding,
Bld. A, 34, Svyaz Str., Strelina Vil., St. Petersburg, Russia, 198515

E-mail: strannik986@mail.ru

Received 20 May 2023

After peer review 30 July 2023

Accepted 15 Aug 2023

The aim of the work was to conduct a review of drugs approved by the FDA in 2022.

Materials and methods. In searching for the materials to write this review article, bibliographic databases including PubMed, Google Scholar and e-library.ru were utilized. The search was conducted for the publications spanning the period from 2008 to 2023. Herewith, the following keywords and word combinations were used: new drug approval, NDA, drug authorization, approval package, breakthrough medicine.

Results. The discovery and development of drugs are among the most crucial scientific processes in healthcare. Developing a new drug is a highly intricate, expensive, and time-consuming process. Nowadays, the problem of costs reduction and the process of expedited discovering of new drugs are particularly pertinent. To optimize the search for active compounds, virtual and high-throughput screenings, machine learning, artificial intelligence, cryo-electron microscopy, and drug repurposing are employed. Simultaneously, the search for original molecules to serve as the basis for innovative drugs continues. This article presents a review of medications approved by the FDA in 2022 for the treatment of various pathologies.

Conclusion. A drug development is a complex and resource-intensive process, with only a small fraction of candidates advancing to clinical trials. A drug design evolves in tandem with societal needs, and this review highlights some of the drugs approved by the FDA in 2022. Technological advancements are expected to expedite drug development, potentially reducing the time to the market. Biotechnology, including cell therapy, holds significant prospects, and achievements in genetic mapping and chip technologies will enhance the accessibility of personalized pharmacology.

Keywords: FDA; biopharmaceuticals; monoclonal antibodies; drug design trends

Abbreviations: ADMET – absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity; AI – artificial intelligence; Ang2 – angiotensin 2; ANN – artificial neural networks; CALD – cerebral adrenoleukodystrophy; CNN – convolutional neural networks; cryo-EM – cryogenic electron microscopy; CVDs – cardiovascular diseases; DL – deep learning; EMA – European Medicines Agency; FBS – fragment-based screening; HTS – high throughput screening; FDA – Food and Drug Administration; GIP – gastric inhibitory polypeptide; GLP-1 – glucagon-like peptide-1; IL – interleukin; ISMC – International Symposium on Medicinal Chemistry; JAK1 – Janus kinase 1; LDA – linear discriminant analysis; MHRA – The Medicines and Healthcare products Regulatory Agency; ML – machine learning; MLP – multilayer perceptron; NME – New Molecular Entity; NYHA – New York Heart Association; PD-1 – programmed cell death 1 receptor; PDB – Protein Data Bank; QSAR – quantitative structure-activity relationship; RF – random forest; RNN – recurrent neural networks; SBDD – structure-based drug discovery; SVM – support vector machine; TSLP – thymic stromal lymphopoietin; VEGF – vascular endothelial growth factor; VLCFAs – very long chain fatty acids; R&D – research and development; CNS – central nervous system; CT – clinical trials.

ВВЕДЕНИЕ

Поиск новых лекарственных средств (ЛС) – это долгий и сложный процесс, который можно условно разделить на четыре основных этапа: (i) выбор мишени и ее валидация; (ii) скрининг соединений, оптимизация хит-структур и соединений-лидеров; (iii) доклинические исследования; (iv) клинические испытания [1]. Медианная стоимость исследований эффективности 59 новых препаратов, одобренных FDA в период с 2015 по 2016 год, оценивалась в 19 млн. долларов США, а завершение типичного цикла разработки от идентификации мишени до одобрения FDA занимает до 14 лет при ориентировочной стоимости 800 млн. [2–4]. Для оптимизации процесса поиска активных соединений используются различные подходы [5]: виртуальный скрининг [4], машинное обучение [6], искусственный интеллект [1], высокопроизводительный скрининг [7], а также криоэлектронная микроскопия, являющаяся быстро развивающимся инструментом для исследования ЛС на основе их химического строения [8].

Длительность появления кандидатов в ЛС также открывает двери для перепрофилирования / перепозиционирования уже существующих ЛС, одобренных для лечения новых патологий регулирующими органами, такими как Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA), Европейское агентство по ЛС (European Medicines Agency, EMA), Агентство по регулированию ЛС и товаров медицинского назначения (The Medicines and Healthcare products Regulatory Agency, MHRA) [9].

В представленной работе перечислена лишь малая часть достижений, которых добились мировые фармацевтические компании на пути к лидерству в спасении или улучшении качества жизни пациентов по всему миру. Данный обзор посвящен лидерам мирового фармацевтического рынка и компаниям, которые инвестируют триллионы долларов в исследования и разработку ЛС и изделий медицинского назначения, а также продуктов питания.

ЦЕЛЬ. Анализ актуальных тенденций зарубежной практики в области разработки и регистрации лекарственных препаратов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Поиск литературы (результаты клинических исследований, обзоров литературы и, в некоторых случаях, информация о доклинических исследованиях) проводили на основе информации, доступной на официальных сайтах FDA и EMA, касающихся выдачи регистрационных удостоверений новым лекарственным препаратам, а также в реферативных базах PubMed, Google Scholar и

e-library.ru. Поиск осуществляли по публикациям за период с 2008 по 2023 год. Список ключевых слов включал (но не ограничивался): «new drug approval», «NDA», «drug authorization», «approval package», «breakthrough medicine», «биофармацевтика», «моноклональные антитела», «тенденции лекарственного дизайна». Было проанализировано 410 источников. Критериями исключения являлись более ранние публикации, язык основного текста отличный от английского; отозванные статьи и статьи, напрямую не затрагивающие тему обзора. Также после систематизации было удалено 37 статей, имеющих сходный характер информации. После проверки 82 источника были признаны подходящими для включения в обзор.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проблемы разработки лекарственных средств

В настоящее время отмечен невероятный рост количества научной информации о самых разных сферах биологии, и, в т.ч., новых данных о физиологии человека и патофизиологии его заболеваний. Исследования и разработки в области фармацевтической промышленности по некоторым подсчетам требуют более 100 миллиардов долларов США ежегодно [10]. На клинические испытания ЛС приходится до 63% указанной суммы, в то время как стоимость доклинических исследований оценивается лишь в 32% [11]. В 2011 г. во всем мире из 5 408 клинически исследуемых ЛС около 2 000 находились в фазе I и II, и около 850 – в фазе III [10]. Стоит отметить, что многие лекарства, достигшие фазы клинических исследований (КИ), предназначены для более, чем одного медицинского применения [12].

За последние годы большое внимание уделяется развитию геномных и биоинформатических подходов для выявления новых биомаркеров заболеваний или потенциальных мишеней для ЛС [13]. Революция в геномике и протеомике привела к появлению большого количества новых мишеней ЛС [14]. Эти биомаркеры можно рассматривать в качестве индикаторов для измерения и оценки нормальных биологических процессов, либо для воздействия на биологические системы некоторых агентов [15]. Использование биомаркеров для отбора пациентов в исследованиях фазы I/II может ускорить разработку и противоопухолевых препаратов [14, 16].

Конечно, несмотря на благоприятный профиль доклинических исследований, ЛС могут потерпеть неудачу в КИ или выйти на рынок с задержкой в результате проявления серьезных побочных эффектов [17]. Несмотря на все усилия, неудачи в КИ резко возросли за последние 20 лет, при этом в период с 1990 по 2010 год показатели отсева увеличились

для фазы I с 33 до 46%, для фазы II – с 43 до 66% и для фазы III – с 20 до 30% [10]. Текущие причины неудачи на этапе II: недостаточная эффективность (51%), проблемы безопасности (19%), стратегические проблемы (29%) и проблемы с фармакокинетикой / биодоступностью (1%) [18]. Причинами неудач фазы III являются недостаточная эффективность (66%), проблемы безопасности (21%), финансовые или коммерческие проблемы (7%) и другие аспекты (6%). В целом, показатели эффективности новых препаратов в фазе II составляют около 20% (51% недостаточная эффективность и 19% опасения по поводу безопасности) и около 50% в фазе III (66% недостаточная эффективность и 21% опасения по поводу безопасности) [19]. Таким образом, хотя в выполнении научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ (НИОКР) важен успех на каждом этапе, однако правильный выбор стратегии на самом раннем этапе остается решающим.

Тенденции разработки ЛС по терапевтическим областям

В 1970-х годах во время первых Международных симпозиумов по медицинской химии (International Symposium on Medicinal Chemistry, ISMC) наиболее часто вели разработку ЛС, предназначенных для терапии инфекционных заболеваний: в 1970 и 1972 гг. доля ЛС для лечения данной группы заболеваний составляла до 30% от всех разработок [20, 21]. Актуальность этой тематики составляла менее 15% до 2016 года, а затем снова повысилась в 2018 году. Материалы, связанные с заболеваниями центральной нервной системы (ЦНС), лидировали в ISMCs до 2000-х годов (1980-е – 20,8%; 1990-е – 16,6%; 2000-е – 16,8%), затем упав на третье место в 2010-х (9,9%). Общее снижение связано с меньшим числом препаратов-кандидатов для лечения ЦНС, находящихся в клинической разработке с 1990-х годов в результате снижения интереса фармацевтических компаний к заболеваниям ЦНС [22]. При заболеваниях ЦНС акцент постепенно смещался с психиатрии, которая представляла собой самый большой класс показаний до конца 1980-х годов, в сторону неврологии.

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) занимали третье место в 1970-х годах с пиком в 30% в 1974 году. Тематика ССЗ поднялась на вторую позицию в 1980-х (13,1%) и 1990-х годах (14,5%). Однако из-за резкого сокращения количества лекций, посвященных ССЗ, в конце 1990-х годов эта тематика с тех пор занимает одно из последних мест с 3,6% в 2000-х и 3,9% в 2010-х [20]. Это соответствует сокращению фармацевтических исследований и разработок в этом районе и его стагнации в течение двух десятилетий [23].

Самый большой сдвиг произошел в онкологии. В настоящее время, доминируя в программе с 21,5%

в 2010-х годах, эта терапевтическая область была едва представлена в 1970-х годах (2,7%), но к 2000-м вклад в онкологию значительно вырос и в последние годы занимает первое место в семи изданиях ISMCs подряд. Это согласуется с неуклонным увеличением одобренных FDA новых молекулярных соединений (New Molecular Entity NME) для лечения рака и доминирующим положением противоопухолевых кандидатов в ЛС – 36,7% от общего потока фармацевтических НИОКР [21].

Другие терапевтические области вносят меньший вклад в современные программы симпозиума [20]: иммунология до 10%, метаболические расстройства до 10%, вопросы анальгезии до 7%, респираторные заболевания – 1%. Значительное количество других терапевтических направлений лишь спорадически появлялось в программах ISMC, таких как заболевания опорно-двигательного аппарата, желудочно-кишечные заболевания, оториноларингология, репродукция, нарушения сна, урология / нефрология, дерматология и офтальмология.

Стратегии лекарственного дизайна

За последние 30 лет открытие таргетных ЛС позволило значительно расширить список хемотипов и фармакофоров для их разработки. Новые методы, такие как высокопроизводительный скрининг (high throughput screening, HTS), фрагментарный скрининг (fragment-based screening, FBS), кристаллография в сочетании с молекулярным моделированием, а также комбинаторная и параллельная химия, позволили создать значительное разнообразие химических структур-хитов [24]. Более того, это богатство хемотипов теперь может быть использовано в качестве источника соединений-инструментов для изучения неизведанного биологического пространства и поиска новых мишеней для ЛС или для фенотипического скрининга с использованием системных подходов для идентификации кандидатов в ЛС агностическим образом.

Искусственный интеллект. Понятие «искусственный интеллект» (artificial intelligence, AI) включает комплекс методов, позволяющих рассуждать, искать информацию и решения отдельных задач, а также выполнять процессы «машинного обучения» (machine learning, ML) [25], которое использует алгоритмы распознавания и классификации закономерностей в наборе данных [1]. Частным случаем ML является глубокое обучение (deep learning, DL), базирующееся на использовании «нейронных сетей» (artificial neural networks, ANN) [26]. Данный подход строится на имитации передачи электрических импульсов в головном мозге при помощи взаимосвязанных сложных вычислительных элементов, включающих «перцептоны», аналогичные по принципу работы нейронам человека [27]. ANN представляют собой набор узлов, каждый из которых получает отдельный

вход, в конечном итоге преобразуя их в выходной сигнал, либо одиночный, либо многосвязный, используя алгоритмы для решения задач [28]. ANN включают в себя различные типы, в т.ч. сеть многослойного перцептрона (multilayer perceptron, MLP), рекуррентные нейронные сети (recurrent neural networks, RNN) и сверточные нейронные сети (convolutional neural networks, CNN), которые используют контролируемые или неконтролируемые процедуры обучения [29, 30].

Серьезными проблемами данных, используемых AI, являются масштаб, рост, разнообразие и неопределенность данных. Базы данных фармацевтических компаний, используемые для разработки ЛС, часто включают миллионы соединений, что является вызовом для традиционных инструментов ML [31]. Для быстрых прогнозов активности большого количества соединений и предсказания их физико-химических параметров (например, коэффициента проницаемости $\log P$ и/или коэффициента распределения $\log D$) применяются вычислительные модели, основанные на количественном соотношении, структура–активность

(quantitative structure-activity relationship, QSAR). В то же время подобные модели непригодны для предсказания комплексных биологических свойств, определяющих эффективность и безопасность ЛС [32]. Более того, модели на основе QSAR, как правило, основываются на небольших обучающих выборках, поэтому их прогнозы зависят от наличия случайных ошибок в экспериментальных данных. Для решения подобных проблем в настоящее время внедряются подходы к AI, основанные на DL и моделировании, позволяющие оценить безопасность и эффективность ЛС, исходя из результатов анализа больших данных (Big Data Analysis) [33]. Вероятно, по этим причинам в 2012 году компания Merck поддержала разработку QSAR ML с целью оценки преимуществ использования DL в разработке ЛС [34, 35]. Модели DL продемонстрировали более высокую прогностическую силу по сравнению с классическими подходами ML при тестировании на 15 наборах данных об абсорбции, распределении, метаболизме, экскреции и токсичности (absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity, ADMET) кандидатов в ЛС [33, 36].

Таблица 1 – Современные тенденции в разработках, одобренных FDA, по группам патологии

Группа патологий	Число одобренных препаратов, абс. (%)	Основные заболевания
Опухолевые заболевания	17 (21%)	ангиофиброма, гепатоцеллюлярная карцинома, меланома, миелофиброз, множественная миелома, немелкоклеточный рак легкого, острый миелоидный лейкоз, рак простаты, рак яичников, фолликулярная лимфома, холангиокарцинома.
Заболевания ЦНС	10 (12%)	бессонница, болезнь Альцгеймера, большое депрессивное расстройство, рассеянный склероз, синдром дефицита внимания с гиперактивностью, судороги различного генеза, тревожное расстройство, церебральная адренолейкодистрофия.
Дерматологические заболевания	8 (10%)	атопический дерматит, бляшечный псориаз, генерализованный пустулезный псориаз, ожоги кожи, розацеа
Инфекционные заболевания	6 (7%)	вагинальная грибковая инфекция, ВИЧ-инфекция, профилактика COVID-19, профилактика кори, эпидемического паротита, краснухи, профилактика рецидивирующей инфекции <i>Clostridioides difficile</i> , хеликобактерная инфекция.
Нарушения обмена веществ	6 (7%)	дефицит кислой сфингомиелиназы, дефицит пируваткиназы, нарушения цикла мочевины, сахарный диабет 2 типа, транстиретиновый амилоидоз.
Осложнения противоопухолевой терапии	5 (6%)	нейтропения, связанная с химиотерапией, профилактика цисплатин-индуцированной ототоксичности.
Диагностика и обследование	5 (6%)	не обнаружено
Офтальмологические заболевания	5 (6%)	открытоугольная глаукома, макулярная дегенерация, отек желтого пятна, глаукома/внутриглазная гипертензия, поверхностная анестезия.
Заболевания опорно-двигательного аппарата	4 (5%)	боковой амиотрофический склероз, спастичность.
Кардиологические заболевания	3 (4%)	высокое артериальное давление, ишемическая болезнь сердца, стенокардия, сердечная недостаточность, гипертрофическая кардиомиопатия.
Гематологические заболевания	3 (4%)	бета-талассемия, болезнь холодовых агглютининов, гемофилия В.

Таблица 2 – Лекарственные средства, одобренные FDA в 2022 году

№	Дата одобрения	МНН	Торговое название	Производитель	Показания к применению	Природа препарата / механизм действия	Лекарственная форма
1	07.12.22	даридорексант	Quviviq®	Idorsia Ltd.	бессонница	двойной антагонист орексиновых рецепторов (DORA)	таблетки
2	13.01.22	мометазона фуроат и олопатадина гидрохлорид	Ryaltris	Glenmark Pharmaceuticals, Inc.	сезонный аллергический ринит (SAR)	комбинация кортикостероидов и антигистаминных препаратов	назальный спрей
3	14.01.22	аброцитиниб	Cibinqo®	Pfizer Inc.	атопический дерматит	ингибитор янус-киназы (JAK) 1	таблетки
4	25.01.22	тебентафусп	Kimmtrak®	Immunoscore	увеальная меланома	биспецифический пептид GR100-HLA-направленный активатор CD3 T-клеток	р-р для инъекций
5	28.01.22	фарицимаб	Vabysmo	Genentech	макулярная дегенерация, диабетический макулярный отек	биспецифическое антитело, нацеленное на VEGF и пути ангиопоэтина 2 (Ang2)	интравитреальное введение
6	31.01.22	вакцина от covid-19	Spikevax®	Moderna, Inc.	профилактика COVID-19	мрнк-вакцина	р-р для инъекций
7	04.02.22	сумимлимаб	Enjaymo®	Sanofi	болезнь холодовых агглютининов	классический ингибитор компонента	р-р для инъекций
8	04.02.22	баклофен	Fleqsuvy	Azurity Pharmaceuticals, Inc., США	спастичность	гамк-производные релаксанты скелетных мышц	сuspензия для приема внутрь
9	17.02.22	митапиват	Pyrukynd®	Agios Pharmaceuticals, Inc.	дефицит пируваткиназы	активатор пируваткиназы	таблетки
10	22.02.22	технеций tc 99m сукцимер	NephroScan	–	диагностика и исследование	радиоактивный диагностический агент	набор для инъекций
11	24.02.22	амлодипина безилат	Norliqva®	CMP Pharma, Inc.	высокое кровяное давление, ишемическая болезнь сердца, стенокардия	блокатор кальциевых каналов	р-р для приема внутрь
12	25.02.22	филграстим	Releuko®	Kashiv BioSciences, LLC	нейтропения, связанная с химиотерапией	рекомбинантный человеческий гранулоцитарный колониестимулирующий фактор	р-р для инъекций
13	28.02.22	цилтакабтаген аутолейцел	Carvykti®	Janssen Pharmaceutical Companies	множественная миелома	BCMA-направленная иммунотерапия CAR-T	suspензия для внутривенного введения
14	28.02.22	пакритиниб	Vonjo®	CTI BioPharma Corp.	миелофиброз	ингибитор мультитикиназы JAK2/FLT3	капсулы
15	11.03.22	донепезил	Adlarity®	Corium, Inc.	болезнь Альцгеймера	ингибитор ацетилхолинэстеразы	трансдермальная система
16	17.03.22	мометазона фуроата моногидрат	Nasonex 24HR Allergy	Perrigo Company plc	аллергический ринит	кортикостероид	назальный спрей

Продолжение таблицы 2

№	Дата одобрения	МНН	Торговое название	Производитель	Показания к применению	Природа препарата / механизм действия	Лекарственная форма
17	18.03.22	ганаксолон	Ztalmu®	Marinus Pharmaceuticals, Inc.	судороги, связанные с дефицитом CDKL5	нейроактивный стероид, положительный модулятор рецептора ГАМК-а	суспензия для приема внутрь
18	18.03.22	ниволумаб и релатлимаб	Opdualag	Bristol Myers Squibb	меланома	комбинация антител, блокирующих рецептор запрограммированной смерти-1 (PD-1), и антител, блокирующих ген-3 активации лимфоцитов (LAG-3)	р-р для инъекций
19	22.03.22	дексроамфетамин	Xelstrym	Noven Pharmaceuticals, Inc.	синдром дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ)	стимулятор ЦНС	трансдермальная система
20	22.03.22	сиролимус	Hyftor®	Nobelpharma America, LLC	ангиофиброза лица, связанная с туберозным склерозом	ингибитор mTOR иммунодепрессант	гель для местного применения
21	23.03.22	галлий га 68 гозетотид	Locametz®	Novartis Pharmaceuticals Corporation	позитронно-эмиссионная томография	радиоактивный диагностический агент	р-р для инъекций
22	23.03.22	лютеций lu 177 випивотид тетрактетан	Pluvicto®	Novartis	рак простаты	радиолигандный терапевтический агент	р-р для инъекций
23	28.03.22	тестостерон	Tlando®	Antares Pharma, Inc.	гипогонадизм, мужской	заместительная терапия тестостероном	капсулы
24	05.04.22	алпелисиб	Vijoice®	Novartis	спектр чрезмерного роста, связанный с PIK3CA	ингибитор киназы	таблетки
25	05.04.22	дексмедетомидин	Igalmi	BioXcel Therapeutics, Inc.	тревога	агонист альфа2-адренорецепторов	сублингвальная форма
26	13.04.22	бевацизумаб	Alymsys®	Amneal Pharmaceuticals, Inc.	колоректальный рак, немелкоклеточный рак легкого, мультиформная глиобластома, почечно-клеточный рак, рак шейки матки, рак яичников, рак маточной трубы, рак брюшины	ингибитор фактора роста эндотелия сосудов	р-р для инъекций
27	22.04.22	пероксид бензоила	Epsolay®	Sol-Gel Technologies, Ltd.	розацеа	окислитель для местного применения	крем
28	26.04.22	отеконазол	Vivjoa®	Mycovia Pharmaceuticals, Inc	вагинальная грибковая инфекция	пероральный противогрибковый азол	капсулы
29	28.04.22	мавакамтен	Camzyos®	Bristol Myers Squibb	гипертрофическая кардиомиопатия	первый в своем классе ингибитор сердечного миозина	капсулы

Продолжение таблицы 2

№	Дата одобрения	МНН	Торговое название	Производитель	Показания к применению	Природа препарата / механизм действия	Лекарственная форма
30	28.04.22	триентина тетрагидрохлорид	Cuvrior	Orphalan SA	болезнь Вильсона	хелатор меди	таблетки
31	03.05.22	амоксциллин, кларитромицин и вонопрозан	Voquezna® Triple Pak®	Phathom Pharmaceuticals, Inc.	хеликобактерная инфекция	амоксциллин (антибактериальный препарат пенициллинового класса), кларитромицин (антимикробный макролидный препарат), вонопрозан (блокатор калий-конкурентной кислоты (PCAB))	капсулы+таблетки
32	12.05.22	эдаравон	Radicava ORS®	Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation	боковой амиотрофический склероз	поглотитель свободных радикалов	суспензия для приема внутрь
33	13.05.22	тирзепатид	Mounjaro	Eli Lilly and Company	сахарный диабет 2 типа	агонист рецептора глюкозозависимого инсулиноподобного полипептида (GIP) и глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1)	р-р для инъекций
34	23.05.22	тапинароф	Vtama®	Dermavant Sciences	бляшечный псориаз	средство, модулирующее местный арилуговодородный рецептор (ANR)	крем
35	26.05.22	пегфилграстим	Fylnetra	Amneal Pharmaceuticals, Inc.	нейтропения, связанная с химиотерапией	фактор роста лейкоцитов	р-р для инъекций
36	03.06.22	вакцина против кори, эпидемического паротита и краснухи живая	Priorix®	GSK	профилактика кори, профилактика эпидемического паротита, профилактика краснухи	живая ослабленная вакцина	р-р для инъекций
37	13.06.22	вутрисиран	Amvuttra®	Amylam Pharmaceuticals, Inc.	транстиретиновый амилоидоз	РНКи терапевтический	р-р для инъекций
38	08.07.22	индиготииндисульфат натрия	Bludigo	Provepharm	диагностика и обследование урологическое и гинекологическое	диагностический краситель	р-р для инъекций
39	15.07.22	зонисамид	Zonisade®	Azurity Pharmaceuticals, Inc.	судороги	ГАМК-ергический блокатор потенциалзависимых натриевых и кальциевых каналов	суспензия для приема внутрь
40	27.07.22	ундеканат тестостерона	Kyzatrex	Marius Pharmaceuticals	мужской гипогонадизм	заместительная терапия тестостероном	капсулы
41	29.07.22	рофлумиласт	Zoryve	Arcutis Biotherapeutics, Inc.	бляшечный псориаз	местный ингибитор фосфодиэстеразы 4 (PDE4)	крем

Продолжение таблицы 2

№	Дата одобрения	МНН	Торговое название	Производитель	Показания к применению	Природа препарата / механизм действия	Лекарственная форма
42	02.08.22	ранибизумаб	Cimerli	Coherus BioSciences, Inc.	дегенерация желтого пятна, отек желтого пятна, диабетический отек желтого пятна, диабетическая ретинопатия, миопическая хориоидальная неоваскуляризация	ингибитор VEGF	интравитреальное введение
43	17.08.22	бетабеглоген аутогенцел	Zynteglo®	Bluebird Bio, Inc.	бета-талассемия	генная терапия на основе аутологических гемопоэтических стволовых клеток	суспензия для внутривенного введения
44	18.08.22	дексстрометорфан и бупропион	Auvelity	Axsome Therapeutics, Inc.	большое депрессивное расстройство	антагонист рецептора NMDA	extended-release tablets
45	30.08.22	омепразол и бикарбонат натрия	Konvomer	Azurity Pharmaceuticals, Inc.	язва желудка, желудочно-кишечное кровотечение	комбинация ингибитора протонной помпы (ИПП) омепразола и бикарбоната натрия	порошок для приема внутрь
46	31.08.22	олипудаз альфа	Xenprozyme	Sanofi	дефицит кислой сфингомиелиназы	гидролитический лизосомальный сфингомиелин-специфический фермент	лиофилизированный порошок для инъекций
47	01.09.22	спесолимаб	Spevigo®	Boehringer Ingelheim	генерализованный пустулезный псориаз	антагонист рецептора интерлейкина-36	р-р для инъекций
48	01.09.22	пегфилграстим	Stimufend®	Fresenius Kabi	нейтропения, связанная с химиотерапией	фактор роста лейкоцитов	р-р для инъекций
49	07.09.22	даксиботулинотоксин а	Daxxify®	Revance Therapeutics, Inc.	гладеллярные линии	ингибитор высвобождения ацетилхолина и нейромышечный блокатор	лиофилизированный порошок для инъекций
50	09.09.22	деукравацитиниб	Sotyktu	Bristol Myers Squibb	бляшечный псориаз	ингибитор тирозинкиназы 2 (TYK2)	таблетки
51	09.09.22	эфлапеграстим	Rolvedon®	Spectrum Pharmaceuticals, Inc.	нейтропения, связанная с химиотерапией	фактор роста лейкоцитов	р-р для инъекций
52	14.09.22	терлипрессин	Terlivaz®	Mallinckrodt plc	гепаторенальный синдром	агонист рецепторов вазопрессина	лиофилизированный порошок для инъекций
53	16.09.22	апрепитант	Apronvie	Heron Therapeutics, Inc.	тошнота/рвота в послеоперационном периоде	антагонист рецептора вещества р/нейрокинина-1 (NK1)	р-р для инъекций
54	16.09.22	эливалдоген аутогенцел	Skysona®	Bluebird bio, Inc.	церебральная адренолейкодистрофия	функциональные копии гена ABCD1, добавленные к стволовым клеткам пациента и созданные с использованием собственных стволовых клеток крови пациента	суспензия для внутривенного введения

Продолжение таблицы 2

№	Дата одобрения	МНН	Торговое название	Производитель	Показания к применению	Природа препарата / механизм действия	Лекарственная форма
55	20.09.22	тиосульфат натрия	Redmark®	Fennec Pharmaceuticals Inc.	профилактика цисплатин-индуцированной ототоксичности	цисплатин-нейтрализующий агент	р-р для инъекций
56	21.09.22	гадопиленол	Elucirem	Guerbet	парамагнитное контрастное вещество для магнитно-резонансной томографии	контрастное вещество на основе макроциклического гадолиния (GBCA)	р-р для инъекций
57	22.09.22	омиденепаг изопропил	Omlonti®	Santen Inc.	глаукома/внутриглазная гипертензия	относительно селективный агонист рецептора простагландина E2 (EP2)	офтальмологический р-р
58	27.09.22	хлоропрокаина гидрохлорид	Iheezo	Narrow	поверхностная анестезия глаз	эфирный анестетик	офтальмологический гель
59	27.09.22	бевацизумаб	Vegzelma®	Celltrion USA	колоректальный рак, немелкоклеточный рак легкого, мультиформная глиобластома, почечно-клеточный рак, рак шейки матки, рак яичников, рак маточной трубы, рак брюшины	ингибитор VEGF	р-р для инъекций
60	29.09.22	фенилбутират натрия и таурурсодиол	Relyvrio	Amylux Pharmaceuticals, Inc.	боковой амиотрофический склероз	пероральная комбинированная терапия с фиксированными дозами для лечения взрослых с бас	порошок для приема внутрь
61	30.09.22	футибатиниб	Lytgobi®	Taiho Oncology, Inc.	холангиокарцинома	необратимый ингибитор тирозинкиназы FGFR1, 2, 3 и 4	таблетки
62	07.10.22	фуросемид	Furoscix®	scPharmaceuticals, Inc.	сердечная недостаточность	петлевой диуретик	р-р для инъекций
63	21.10.22	тремелимумаб	Imjudo®	AstraZeneca	гепатоцеллюлярная карцинома	антитело, блокирующее цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный антиген 4 (CTLA-4)	р-р для инъекций
64	25.10.22	теклистамаб	Tecvayi®	Janssen Pharmaceutical Companies of Johnson & Johnson	множественная миелома	биспецифический антиген созревания в-клеток (BCMA), направленный на привлечение CD3 Т-клеток	р-р для инъекций
65	14.11.22	мирветуксимаб соравтансин	Elahere	ImmunoGen, Inc.	рак яичников, рак фаллопиевых труб, рак брюшины	конъюгат антител против рецептора фоллиевой кислоты альфа (FRα) и ингибитора микротрубочек	р-р для инъекций
66	17.11.22	теплизумаб	Tzield®	Provention Bio, Inc.	отсрочка начала диабета 1 типа на стадии 3	CD3-направленное антитело	р-р для инъекций

Продолжение таблицы 2

№	Дата одобрения	МНН	Торговое название	Производитель	Показания к применению	Природа препарата / механизм действия	Лекарственная форма
67	17.11.22	фенобарбитал натрия	Sezaby	Sun Pharmaceutical Industries Limited	неонатальные судороги	ГАМК-миметик	порошок для инъекций
68	22.11.22	этранакоген дезапаровец	Hemgenix®	CSL	гемофилия В	генная терапия на основе вектора аденоассоциированного вируса	суспензия для внутривенного введения
69	30.11.22	фекальная микробиота, живая	Rebyota®	Ferring Pharmaceuticals Inc.	профилактика рецидивирующей инфекции clostridioides difficile	живой биотерапевтический на основе микробиоты	суспензия для ректального введения
70	01.12.22	олугазидениб	Rezlidhia	Forma Therapeutics	острый миелоидный лейкоз	ингибитор изоцитратдегидрогеназы-1 (IDH1)	капсулы
71	12.12.22	адаграсиб	Krazati®	Mirati Therapeutics, Inc.	немелкоклеточный рак легкого	низкомолекулярный ингибитор KRAS g12c	таблетки
72	13.12.22	латанопрост	Iyuzeh	Thea Pharma, Inc.	внутриглазная гипертензия, открытоугольная глаукома,	аналог простагландина f2α	офтальмологический р-р
73	13.12.22	адалимумаб	Idacio®	Fresenius Kabi	ревматоидный артрит, ювенильный идиопатический артрит, псориаз, артрит, болезнь Бехтерева, болезнь Крона, язвенный колит, бляшечный псориаз	блокатор фактора некроза опухоли (TNF)	р-р для инъекций
74	16.12.22	надофарген фираденовец	Adstiladrin®	Ferring Pharmaceuticals	рак мочевого пузыря	генная терапия на основе нереплицирующегося аденовирусного вектора	суспензия для интравезикулярного применения
75	22.12.22	ленакапавир	Sunlensa®	Gilead Sciences, Inc.	ВИЧ-инфекция	ингибитор капсида ВИЧ-1 длительного действия	р-р для инъекций и таблетки
76	22.12.22	мосунетузумаб	Lunsumio	Genentech	фолликулярная лимфома	биспецифический CD20-направленный активатор CD3 T-клеток	р-р для инъекций
77	22.12.22	фенилбутират натрия	Olpruva	Acer Therapeutics Inc.	нарушения цикла мочевины	азотсвязывающий агент	суспензия для приема внутрь
78	23.12.22	ксенон хе 129 гиперполяризованный	Xenoview	Polarean Imaging plc	диагностика и исследование	гиперполяризованный контрастный агент	субстанция для ингаляции
79	28.12.22	ублитуксимаб	Briumvi	TG Therapeutics, Inc.	рассеянный склероз	CD20-направленное цитолитическое антитело	р-р для инъекций
80	28.12.22	анакаулаза	NexoBrid®	MediWound Ltd.	ожоги кожи	концентрат протеолитических ферментов	гель для местного применения

Таблица 3 – Комбинации химиотерапевтических препаратов с бевацизумабом для лечения различных видов рака

Вид опухоли	Препарат-комбинация
Метастатический колоректальный рак	Фторурацил (1–2 линия)
	Фторпиримидин+иринотекан или
	Фторпиримидин+оксалиплатин (2 линия)
Неплоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого	Карбоплатин+паклитаксел (1 линия)
Метастатический почечно-клеточный рак	Альфа-интерферон
Персистирующий, рецидивирующий или метастатический рак шейки матки	Паклитаксел+цисплатин или
	Паклитаксел+топотекан
Эпителиальный рак яичников, фаллопиевых труб или первичный рак брюшины	Паклитаксел

Виртуальный скрининг. Виртуальные химические библиотеки обширны и содержат данные о химических структурах молекул и их свойствах. Информация о пространственной конфигурации молекул используется для поиска биологически активных соединений методами виртуального скрининга (virtual screening, VS), которые упрощают выбор молекул, пригодных для дальнейшего тестирования [37]. Отдельные химические библиотеки находятся в открытом доступе, например, базы данных PubChem, ChemBank, DrugBank и ChemDB.

Отсев молекул, не являющихся лидерами, выполняют при помощи многочисленных методов *in silico*, используемых для виртуального скрининга соединений из виртуальных химических библиотек и опирающихся на данные о химической структуре как самих молекул, так и их лиганд. Внедрение подобных технологий позволяет ускорить разработку молекул и снизить затраты путем минимизации необходимости скрининговых тестов *in vitro* и *in vivo*, ранее широко применявшихся для отбора хит-соединений и лидеров [38]. Современные алгоритмы дизайна ЛС (кулоновские матрицы, распознавание «молекулярных отпечатков пальцев») многофакторны: они исходят из физических, химических и токсикологических профилей известных молекул для прогнозирования выбора соединений-лидеров [1].

Для предсказания целевой химической структуры соединений анализу подлежат множество параметров, что определяет широкое применение прогностических моделей *in silico*, основанных на молекулярном сходстве с известными ЛС [39, 40]. Например, разработанная Pereira J.C. и соавт. система DeepVS, предназначенная для докинга 40 рецепторов и 2 950 лиганд, продемонстрировала исключительную производительность при тестировании 95 000 лиганд [41]. Другой пример – использование многокритериального автоматизированного алгоритма, выполняющего замены радикалов с целью оптимизации профиля

активности ингибитора циклинзависимой киназы-2, разработка которого включала оценку сходства формы, биохимической активности и физико-химических свойств тестируемых молекул [42].

Для ускорения анализа QSAR в области идентификации потенциальных лекарств-кандидатов применяются подходы на основе AI, в частности, линейный дискриминантный анализ (linear discriminant analysis, LDA), метод опорных векторов (support vector machines, SVM), метод случайного леса (random forest, RF) и дерево решений [43–45].

Криоэлектронная микроскопия. До 2014 года криоэлектронная микроскопия (cryogenic electron microscopy, cryo-EM) редко обеспечивала разрешение ниже 4,0 Å, часто необходимое для разработки ЛС, основанной на их структурных особенностях (structure-based drug discovery, SBDD) [46]. Однако взрывной прогресс методологии за последние несколько лет привел к более высокой доступности структурных данных с высоким разрешением. «Квантовый скачок» cryo-EM обязан многим достижениям, таким как прямые детекторы электронов для записи изображений, улучшенные вычислительные методы и аппаратное распараллеливание для обработки большого набора данных [47]. Кроме того, природа cryo-EM как метода прямой визуализации позволяет быстро диагностировать биохимические проблемы, такие как агрегация и нестабильность образцов, что приводит к быстрому улучшению их качества за счет генетических и биохимических модификаций [48]. В результате количество cryo-EM-структур, депонированных в Protein Data Bank (PDB) с разрешением 4,0 Å или выше, выросло с 16 (в 2014 году) до 1 753 новых структур (в 2020 году). Доля вновь нанесенных структур с разрешением лучше 4,0 и 3,5 Å увеличилась с 36 и 12% в 2015 году до 75 и 50% в 2020 году [8]. Возможно, наиболее впечатляющим является то, что доля осажденных в 2020 году структур с разрешением выше 3,0 и 2,5 Å, ранее почти не существовавшая, теперь составляет значительные 18 и 3% соответственно [8, 49].

Репозиционирование ЛС. Репозиционирование ЛС имеет ряд взаимосвязанных преимуществ [50]. По сути, они заключаются в упрощении регуляторных процедур для вывода на рынок ранее одобренного препарата, особенно в некоторых странах, таких как США [51]. Эта процедура учитывает ранее полученные данные, в частности, о безопасности и токсичности препарата, что может значительно ускорить начальные этапы разработки нового препарата [52] и, следовательно, удешевить его (более чем на 80% по данным Нейлора), [53] и повышает шансы его выхода на рынок. Одно важное соображение, однако, заключается в том, что из-за того, что уровень безопасности, требуемый для ЛС, сильно зависит от его показаний, побочные эффекты будут пропорционально менее приемлемыми, если его перепозиционировать для лечения менее серьезного заболевания, либо наоборот для заболевания более серьезного, чем его первоначальное показание к применению [54, 55] Любое изменение состава, дозировки или способа введения потребует повторного изучения профиля безопасности препарата в этих новых условиях, поскольку это будет новый лекарственный препарат.

Обзор современного состояния разработок, одобренных FDA

Согласно проведенному анализу современных разработок, наиболее часто одобрение получают препараты с противоопухолевой активностью (21%), против заболеваний ЦНС (12%) и дерматологических заболеваний (8%) (табл. 1). Стоит отметить, что около 22% одобренных препаратов составляют биотехнологические продукты, что может свидетельствовать об актуальных тенденциях в лекарственном дизайне (табл. 2).

Spikevax представляет собой мРНК-вакцину, которую можно использовать для активной иммунизации от COVID-19 у лиц в возрасте от 12 лет и старше. Одобренная FDA вакцина Spikevax (моновалентная) и разрешенная к использованию в чрезвычайных ситуациях (EUA) вакцина Moderna COVID19 (моновалентная) представляют собой одну и ту же вакцину, которая содержит один компонент мРНК исходного штамма SARS-CoV-2, однако при использовании, с одобрения FDA, вакцина называется Spikevax, а при использовании по EUA – вакцина Moderna COVID19. Вакцина Moderna COVID19 (двухвалентная) отличается от оригинальной вакцины Moderna COVID19 (моновалентной) и Spikevax (моновалентной), поскольку содержит два компонента мРНК SARS-CoV-2. Эффективность вакцины подтверждена множеством исследований [56–58].

Opdualag (ниволумаб и релатлимаб-rmbw) – это комбинация антител, показанная для лечения

нерезектабельной или метастатической меланомы у взрослых и детей от 12 лет [59]. Ниволумаб представляет собой антитело, блокирующее рецептор программируемой смерти клеток 1 (PD-1), впервые одобренное под торговой маркой Opdivo для лечения нерезектабельной или метастатической меланомы в 2014 году. Ген-3 активации лимфоцитов (LAG-3) представляет собой молекулу, экспрессируемую на мембранах эффекторных и регуляторных Т-клеток [60]. Релатлимаб представляет собой блокирующее LAG-3 антитело, которое связывается с LAG-3 на Т-клетках, тем самым восстанавливая эффекторную функцию истощенных Т-клеток и потенциально способствуя противоопухолевому ответу [61]. Комбинация ниволумаба и релатлимаба приводит к повышенной активации Т-клеток по сравнению с активностью любого антитела по отдельности. Одобрение FDA препарата Opdualag основано на результатах фазы II/III исследования RELATIVITY-047, в котором фиксированная комбинация релатлимаба и ниволумаба продемонстрировала статистически ($p < 0,05$) и клинически значимое преимущество выживаемости без прогрессирования по сравнению с монотерапией ниволумабом [62].

Alymsys (бевацизумаб) представляет собой ингибитор фактора роста эндотелия сосудов для лечения нескольких типов рака, включая метастатический колоректальный рак, немелкоклеточный рак легкого, глиобластому, метастатическую почечно-клеточную карциному, рак шейки матки, эпителиальный рак яичников, фаллопиевых труб или первичный рак брюшины. Препарат применяется в комбинации с другими химиотерапевтическими средствами [63–66] (табл. 3). Вместо непосредственного воздействия на раковые клетки, бевацизумаб воздействует на микроокружение опухоли, характеризующееся сложными взаимодействиями между раковыми клетками, нормальными клетками и внеклеточным матриксом. Более того, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) играет дополнительные, независимые от ангиогенеза, роли в сложном микроокружении опухоли, включая модуляцию противоракового иммунитета. С момента первоначального одобрения бевацизумаба стал доступен ряд таргетных методов лечения рака, что изменило ландшафт лечения многих показаний к солидным опухолям и создало возможности для новых подходов к комбинированному лечению. Действительно, комбинация бевацизумаба с ингибиторами иммунных контрольных точек недавно была одобрена для лечения немелкоклеточного рака легкого, и дальнейшие результаты, демонстрирующие клинические преимущества этой комбинации, были получены в КИ у пациентов с почечноклеточным раком и с ингибиторами PARP у пациенток с раком яичников [67].

Camzyos (мавакамтен) является первым в своем классе ингибитором сердечного миозина, предназначенным для лечения взрослых с симптоматической обструктивной гипертрофической кардиомиопатией класса II–III по классификации Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (New York Heart Association, NYHA) [68]. Гипертрофическая кардиомиопатия – это тип заболевания сердца, характеризующийся утолщением сердечной мышцы и ригидностью его левого желудочка. Обструкция возникает в тот момент, когда утолщенная перегородка вызывает сужение, которое может блокировать или уменьшать кровоток из левого желудочка в аорту, что затрудняет нормальное расширение сердца и его наполнение кровью. Camzyos является аллостерическим, обратимым и селективным ингибитором сердечного миозина [69]. Считается, что он работает за счет снижения сократительной способности сердечной мышцы путем ингибирования чрезмерного образования миозин-актиновых поперечных мостиков. Препарат обладает эмбрио-фетальной токсичностью.

Fleqsuvy представляет собой пероральную суспензию баклофена для лечения спастичности, возникающей в результате рассеянного склероза, в особенности для облегчения спазмов сгибателей и сопутствующей боли, клонуса и мышечной ригидности. Fleqsuvy также может быть полезен для пациентов с заболеваниями спинного мозга, в т.ч. травмами. Он все чаще используется «off-label» для лечения скелетно-мышечной боли, гастроэзофагеальной рефлюксной болезни и алкогольной зависимости [70–72].

Mounjaro (тирзепатид) представляет собой глюкозозависимый рецептор инсулиноотропного полипептида (ГИП) и агонист рецептора глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1), показанный в качестве дополнения к диете и физическим упражнениям для улучшения гликемического контроля у взрослых с сахарным диабетом 2 типа. Mounjaro работает, активируя рецепторы организма к ГИП и ГПП-1, которые являются естественными инкретинными гормонами [73–75]. Препарат вводят подкожно 1 р/нед. Пациентам с диабетической ретинопатией следует принимать препарат с осторожностью, поскольку прием Mounjaro может усугубить указанное состояние.

Cibinqo (аброцитиниб) показан для лечения взрослых и детей с 12 лет с рефрактерным атопическим дерматитом средней и тяжелой степени тяжести. Cibinqo селективно ингибирует янус-киназу-1 (JAK1) [76]. Считается, что ингибирование JAK1 модулирует несколько цитокинов, участвующих в патофизиологии атопического дерматита, включая интерлейкин IL-4, IL-13, IL-31, IL-22 и стромальный лимфопоэтин тимуса (thymic stromal lymphopoietin, TSLP) [77]. В исследовании, опубликованном в

«Lancet», оценивали эффективность и безопасность аброцитиниба по сравнению с дупилумабом [78]. Аброцитиниб в дозе 200 мг/сут был более эффективен, чем дупилумаб у взрослых с атопическим дерматитом средней и тяжелой степени на фоне местной терапии в отношении раннего уменьшения зуда и признаков заболевания атопическим дерматитом. Cibinqo вводят перорально 1 р/сут.

Adstiladrin (надофараген фираденовек) представляет собой нереплицирующийся аденовирусный вектор на основе генной терапии, предназначенный для лечения взрослых пациентов с невосприимчивым немышечно-инвазивным раком мочевого пузыря с высоким риском развития бациллы Кальметта-Герена (БЦЖ) с карциномой *in situ* с папиллярными опухолями или без них [79]. Adstiladrin работает путем доставки гена интерферона альфа-2b в клетки стенки мочевого пузыря, что приводит к увеличенной секреции белка интерферона альфа-2b, нативного агента для борьбы с раком [80]. Adstiladrin закапывают в мочевой пузырь один раз в 3 месяца.

Skysona (эливалдоген аутотемцел) представляет собой однократную генную терапию, используемую для лечения основной причины церебральной аденолейкодистрофии (cerebral adrenoleukodystrophy, CALD). Skysona показана для замедления прогрессирования неврологической дисфункции у мальчиков в возрасте 4–17 лет с ранней активной CALD. Это показание одобрено в ускоренном порядке на основании 24-месячной выживаемости без серьезных функциональных нарушений [68]. CALD – это генетическое заболевание, вызванное мутациями в гене ABCD1, которые приводят к накоплению жирных кислот с очень длинной цепью (very long chain fatty acids, VLCFAs) в головном мозге. VLCFAs способны разрушать миелиновое покрытие нервных клеток и вызывать повреждение головного мозга [81]. Skysona изготавливается специально для каждого пациента с использованием собственных стволовых клеток крови пациента. Функциональные копии гена ABCD1 добавляются к стволовым клеткам пациента, которые затем могут помочь организму разрушить VLCFAs, чтобы замедлить прогрессирование повреждения головного мозга и замедлить снижение неврологической функции [82]. Пакеты Skysona вводят внутривенно в течение менее 60 мин каждый.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработка ЛС, безусловно, является весьма трудоёмким и длительным процессом, а также требует огромного количества ресурсов. Несущественная часть препаратов, проходящих цикл доклинических исследований, проходят в КИ. Тенденции лекарственного дизайна нестатичны и меняются соответственно потребностям общества.

В данном обзоре представлены лишь некоторые наиболее интересные препараты, одобренные для применения FDA в 2022 году. Очевидно, что по мере развития технологий скорость разработки лекарств будет увеличиваться, что повлечёт сокращение времени вывода препарата на рынок. Фармацевтика

на основе биотехнологии и, в частности, клеточной терапии имеет весьма большой потенциал и спрос, а генетическое картирование и усовершенствование технологий чипирования (клетка / ткань / орган на чипе) позволят повысить доступность персонализированной фармакологии.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Д.В. Куркин – идея и планирование содержания работы; Д.А. Бакулин, Ю.В. Горбунова, Ю.А. Колосов, М.А. Джавахян – сбор материала и написание черновика рукописи; Е.И. Морковин, А.В. Стрыгин – сбор материала, редактирование финальной версии рукописи; И.И. Макаренко, Р.В. Драй, А.В. Заборовский, О.В. Шаталова, В.И. Петров, А.П. Плетень, А.А. Прокопов, Т.Ю. Татаренко-Козмина – консультирование по узкоспециализированным вопросам, редактирование и утверждение финальной версии рукописи.

Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Chan H.C.S., Shan H., Dahoun T., Vogel H., Yuan S. Advancing drug discovery via artificial intelligence // *Trends Pharmacol Sci.* – 2019. – Vol. 40, No. 8. – P. 592–604. DOI: 10.1016/j.tips.2019.06.004
- Batool M., Ahmad B., Choi S. A structure-based drug discovery paradigm // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20, No. 11. – Art. ID: 2783. DOI: 10.3390/ijms20112783
- Moore T.J., Zhang H., Anderson G., Alexander G.C. Estimated costs of pivotal trials for novel therapeutic agents approved by the US Food and Drug Administration, 2015–2016 // *JAMA Intern Med.* – 2018. – Vol. 178, No. 11. – P. 1451–1457. DOI: 10.1001/jamainternmed.2018.3931
- Lavecchia A., Di Giovanni C. Virtual screening strategies in drug discovery: a critical review // *Curr Med Chem.* – 2013. – Vol. 20, No. 23. – P. 2839–2860. DOI: 10.2174/09298673113209990001
- Berdigaliyev N., Aljofan M. An overview of drug discovery and development. *Future Med Chem.* – 2020. – Vol. 12, No. 10. – P. 939–947. DOI: 10.4155/fmc-2019-0307
- Vamathevan J., Clark D., Czodrowski P., Dunham I., Ferran E., Lee G., Li B., Madabhushi A., Shah P., Spitzer M., Zhao S. Applications of machine learning in drug discovery and development // *Nat Rev Drug Discov.* – 2019. – Vol. 18, No. 6. – P. 463–477. DOI: 10.1038/s41573-019-0024-5
- Markel U., Essani K.D., Besirlioglu V., Schiffels J., Streit W.R., Schwaneberg U. Advances in ultrahigh-throughput screening for directed enzyme evolution // *Chem Soc Rev.* – 2020. – Vol. 49, No. 1. – P. 233–262. DOI: 10.1039/c8cs00981c
- Robertson M.J., Meyerowitz J.G., Skiniotis G. Drug discovery in the era of cryo-electron microscopy // *Trends Biochem Sci.* – 2022. – Vol. 47, No. 2. – P. 124–135. DOI: 10.1016/j.tibs.2021.06.008
- Parvathaneni V., Kulkarni N.S., Muth A., Gupta V. Drug repurposing: a promising tool to accelerate the drug discovery process // *Drug Discov Today.* – 2019. – Vol. 24, No. 10. – P. 2076–2085. DOI: 10.1016/j.drudis.2019.06.014
- Mignani S., Huber S., Tomás H., Rodrigues J., Majoral J.P. Why and how have drug discovery strategies in pharma changed? What are the new mindsets? // *Drug Discov Today.* – 2016. – Vol. 21, No. 2. – P. 239–249. DOI: 10.1016/j.drudis.2015.09.007
- Paul D., Sanap G., Shenoy S., Kalyane D., Kalia K., Tekade R.K. Artificial intelligence in drug discovery and development // *Drug Discov Today.* – 2021. – Vol. 26, No. 1. – P. 80–93. DOI: 10.1016/j.drudis.2020.10.010
- Shih H.P., Zhang X., Aronov A.M. Drug discovery effectiveness from the standpoint of therapeutic mechanisms and indications // *Nat Rev Drug Discov.* – 2018. – Vol. 17, No. 1. – P. 19–33. DOI: 10.1038/nrd.2017.194
- He X., Hui Z., Xu L., Bai R., Gao Y., Wang Z., Xie T., Ye X.Y. Medicinal chemistry updates of novel HDACs inhibitors (2020 to present) // *Eur J Med Chem.* – 2022. – Vol. 227. – Art. ID: 113946. DOI: 10.1016/j.ejmech.2021.113946
- Geronikaki A. Recent trends in enzyme inhibition and activation in drug design // *Molecules.* – 2020. – Vol. 26, No. 1. – Art. ID: 17. DOI: 10.3390/molecules26010017
- Wooller S.K., Benstead-Hume G., Chen X., Ali Y., Pearl F.M.G. Bioinformatics in translational drug discovery // *Biosci Rep.* – 2017. – Vol. 37, No. 4. – Art. ID: BSR20160180. DOI: 10.1042/BSR20160180
- Carden C.P., Sarker D., Postel-Vinay S., Yap T.A., Attard G., Banerji U., Garrett M.D., Thomas G.V., Workman P., Kaye S.B., de Bono J.S. Can molecular biomarker-based patient selection in Phase I trials accelerate anticancer drug development? // *Drug Discov Today.* – 2010. – Vol. 15, No. 3–4. – P. 88–97. DOI: 10.1016/j.drudis.2009.11.006
- Hauser A.S., Attwood M.M., Rask-Andersen M., Schiöth H.B., Gloriam D.E. Trends in GPCR drug discovery: new agents, targets and indications // *Nat Rev Drug Discov.* – 2017. – Vol. 16, No. 12. – P. 829–842. DOI: 10.1038/nrd.2017.178
- MacLean F. Knowledge graphs and their applications in drug discovery // *Expert Opin Drug Discov.* – 2021. – Vol. 16, No. 9. – P. 1057–1069. DOI: 10.1080/17460441.2021.1910673
- Arrowsmith J. Trial watch: Phase II failures: 2008–2010 // *Nat Rev Drug Discov.* – 2011. – Vol. 10, No. 5. – P. 328–329. DOI: 10.1038/nrd3439
- Differding E. Trends in drug discovery over five decades – The European Federation for Medicinal Chemistry International Symposium on Medicinal Chemistry (EFMC-ISMC) // *ChemMedChem.* – 2020. – Vol. 15, No. 24. – P. 2352–2358. DOI: 10.1002/cmdc.202000840

21. Kinch M.S. An analysis of FDA-approved drugs for oncology // *Drug Discov Today*. – 2014. – Vol. 19, No. 12. – P. 1831–1835. DOI: 10.1016/j.drudis.2014.08.007
22. Kesselheim A.S., Hwang T.J., Franklin J.M. Two decades of new drug development for central nervous system disorders // *Nat Rev Drug Discov*. – 2015. – Vol. 14, No. 12. – P. 815–816. DOI: 10.1038/nrd4793
23. Fordyce C.B., Roe M.T., Ahmad T., Libby P., Borer J.S., Hiatt W.R., Bristow M.R., Packer M., Wasserman S.M., Braunstein N., Pitt B., DeMets D.L., Cooper-Arnold K., Armstrong P.W., Berkowitz S.D., Scott R., Prats J., Galis Z.S., Stockbridge N., Peterson E.D., Califf R.M. Cardiovascular drug development: is it dead or just hibernating? // *J Am Coll Cardiol*. – 2015. – Vol. 65, No. 15. – P. 1567–1582. DOI: 10.1016/j.jacc.2015.03.016
24. Velmurugan D., Pachaiappan R., Ramakrishnan C. Recent trends in drug design and discovery // *Curr Top Med Chem*. – 2020. – Vol. 20, No. 19. – P. 1761–1770. DOI: 10.2174/1568026620666200622150003
25. Yang X., Wang Y., Byrne R., Schneider G., Yang S. Concepts of artificial intelligence for computer-assisted drug discovery // *Chem Rev*. – 2019. – Vol. 119, No. 18. – P. 10520–10594. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00728
26. Jiménez-Luna J., Grisoni F., Weskamp N., Schneider G. Artificial intelligence in drug discovery: recent advances and future perspectives // *Expert Opin Drug Discov*. – 2021. – Vol. 16, No. 9. – P. 949–959. DOI: 10.1080/17460441.2021.1909567
27. Beneke F., Mackenrodt M.O. Artificial Intelligence and Collusion // *IIC* 50. – 2019. – P. 109–134. DOI: 10.1007/s40319-018-00773-x
28. Steels L., Brooks R. (ed.). The artificial life route to artificial intelligence: Building embodied, situated agents. – UK: Taylor & Francis Group, 2018. – 296 p.
29. Bielecki A. Models of neurons and perceptrons: selected problems and challenges. – Germany: Springer International Publishing, 2018. – 156 p.
30. Tekade R.K. The future of pharmaceutical product development and research. – Netherlands: Academic Press, 2020. – 976 p.
31. Paul S.M., Mytelka D.S., Dunwiddie C.T., Persinger C.C., Munos B.H., Lindborg S.R., Schacht A.L. How to improve R&D productivity: the pharmaceutical industry's grand challenge // *Nat Rev Drug Discov*. – 2010. – Vol. 9, No. 3. – P. 203–214. DOI: 10.1038/nrd3078
32. Gupta R., Srivastava D., Sahu M., Tiwari S., Ambasta R.K., Kumar P. Artificial intelligence to deep learning: machine intelligence approach for drug discovery // *Mol Divers*. – 2021. – Vol. 25, No. 3. – P. 1315–1360. DOI: 10.1007/s11030-021-10217-3
33. Zhu H. Big data and artificial intelligence modeling for drug discovery // *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. – 2020. – Vol. 60. – P. 573–589. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-010919-023324
34. Vatansever S., Schlessinger A., Wacker D., Kaniskan H.Ü., Jin J., Zhou M.M., Zhang B. Artificial intelligence and machine learning-aided drug discovery in central nervous system diseases: State-of-the-arts and future directions // *Med Res Rev*. – 2021. – Vol. 41, No. 3. – P. 1427–1473. DOI: 10.1002/med.21764
35. You Y., Lai X., Pan Y., Zheng H., Vera J., Liu S., Deng S., Zhang L. Artificial intelligence in cancer target identification and drug discovery // *Signal Transduct Target Ther*. – 2022. – Vol. 7, No. 1. – Art. ID: 156. DOI: 10.1038/s41392-022-00994-0
36. Ciallella H.L., Zhu H. Advancing computational toxicology in the big data era by artificial intelligence: data-driven and mechanism-driven modeling for chemical toxicity // *Chem Res Toxicol*. – 2019. – Vol. 32, No. 4. – P. 536–547. DOI: 10.1021/acs.chemrestox.8b00393
37. Hessler G., Baringhaus K.H. Artificial intelligence in drug design // *Molecules*. – 2018. – Vol. 23, No. 10. – Art. ID: 2520. DOI: 10.3390/molecules23102520
38. Mak K.K., Pichika M.R. Artificial intelligence in drug development: present status and future prospects // *Drug Discov Today*. – 2019. – Vol. 24, No. 3. – P. 773–780. DOI: 10.1016/j.drudis.2018.11.014
39. Brown N. In silico medicinal chemistry: computational methods to support drug design. – UK: Royal Society of Chemistry, 2015. – 232 p.
40. Sellwood M.A., Ahmed M., Segler M.H., Brown N. Artificial intelligence in drug discovery // *Future Med Chem*. – 2018. – Vol. 10, No. 17. – P. 2025–2028. DOI: 10.4155/fmc-2018-0212
41. Pereira J.C., Caffarena E.R., Dos Santos C.N. Boosting docking-based virtual screening with deep learning // *J Chem Inf Model*. – 2016. – Vol. 56, No. 12. – P. 2495–2506. DOI: 10.1021/acs.jcim.6b00355
42. Firth N.C., Atrash B., Brown N., Blagg J. MOARF, an integrated workflow for multiobjective optimization: implementation, synthesis, and biological evaluation // *J Chem Inf Model*. – 2015. – Vol. 55, No. 6. – P. 1169–1180. DOI: 10.1021/acs.jcim.5b00073
43. Carpenter K.A., Huang X. Machine learning-based virtual screening and its applications to Alzheimer's drug discovery: a review // *Curr Pharm Des*. – 2018. – Vol. 24, No. 28. – P. 3347–3358. DOI: 10.2174/1381612824666180607124038
44. Patel L., Shukla T., Huang X., Ussery D.W., Wang S. Machine learning methods in drug discovery // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25, No. 22. – Art. ID: 5277. DOI: 10.3390/molecules25225277
45. Zhang L., Tan J., Han D., Zhu H. From machine learning to deep learning: progress in machine intelligence for rational drug discovery // *Drug Discov Today*. – 2017. – Vol. 22, No. 11. – P. 1680–1685. DOI: 10.1016/j.drudis.2017.08.010
46. de Oliveira T.M., van Beek L., Shilliday F., Debreczeni J.É., Phillips C. Cryo-EM: the resolution revolution and drug discovery // *SLAS Discov*. – 2021. – Vol. 26, No. 1. – P. 17–31. DOI: 10.1177/2472555220960401
47. Renaud J.P., Chari A., Ciferri C., Liu W.T., Rémy H.W., Stark H., Wiesmann C. Cryo-EM in drug discovery: achievements, limitations and prospects // *Nat Rev Drug Discov*. – 2018. – Vol. 17, No. 7. – P. 471–492. DOI: 10.1038/nrd.2018.77
48. Saur M., Hartshorn M.J., Dong J., Reeks J., Bunkoczi G., Jhoti H., Williams P.A. Fragment-based drug discovery using cryo-EM // *Drug Discov Today*. – 2020. – Vol. 25, No. 3. – P. 485–490. DOI: 10.1016/j.drudis.2019.12.006
49. Van Drie J.H., Tong L. Cryo-EM as a powerful tool for drug discovery // *Bioorg Med Chem Lett*. – 2020. – Vol. 30, No. 22. – Art. ID: 127524. DOI: 10.1016/j.bmcl.2020.127524
50. Kale M.A., Shamkuwar P.B., Mourya V.K., Deshpande A.B., Shelke P.A. Drug repositioning: a unique approach to refurbish drug discovery // *Curr Drug Discov Technol*. – 2022. – Vol. 19, No. 1. – Art. ID: e140122192307. DOI: 10.2174/1570163818666210316114331
51. Jourdan J.P., Bureau R., Rochais C., Dallemagne P. Drug repositioning: a brief overview // *J Pharm Pharmacol*. – 2020. – Vol. 72, No. 9. – P. 1145–1151. DOI: 10.1111/jphp.13273

52. Nosengo N. Can you teach old drugs new tricks? // *Nature*. – 2016. – Vol. 534, No. 7607. – P. 314–316. DOI: 10.1038/534314
53. Naylor D.M., Kauppi D.M., Schonfeld J.M. Therapeutic drug repurposing, repositioning and rescue. *Drug Discovery*. – 2015. – Vol. 57. – P. 1–16. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.researchgate.net/profile/Stephen-Naylor-2/publication/282951546_Therapeutic_drug_repurposing_repositioning_and_rescue_Part_II_Business_review/links/568c102208ae71d5cd04abdc/Therapeutic-drug-repurposing-repositioning-and-rescue-Part-II-Business-review.pdf
54. Dudley J., Berliocchi L. (ed.). *Drug repositioning: approaches and applications for neurotherapeutics*. – USA: CRC press, 2017. – 313 p.
55. Langhans S.A. Three-dimensional in vitro cell culture models in drug discovery and drug repositioning // *Front Pharmacol*. – 2018. – Vol. 9. – Art. ID: 6. DOI: 10.3389/fphar.2018.00006
56. Meo S.A., Bukhari I.A., Akram J., Meo A.S., Klonoff D.C. COVID-19 vaccines: comparison of biological, pharmacological characteristics and adverse effects of Pfizer/BioNTech and Moderna Vaccines // *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. – 2021. – Vol. 25, No. 3. – P. 1663–1669. DOI: 10.26355/eurev.202102.24877
57. Patel R., Kaki M., Potluri V.S., Kahar P., Khanna D. A comprehensive review of SARS-CoV-2 vaccines: Pfizer, Moderna & Johnson & Johnson // *Hum Vaccin Immunother*. – 2022. – Vol. 18, No. 1. – Art. ID: 2002083. DOI: 10.1080/21645515.2021.2002083
58. Xia X. Detailed dissection and critical evaluation of the Pfizer/BioNTech and Moderna mRNA vaccines // *Vaccines (Basel)*. – 2021. – Vol. 9, No. 7. – Art. ID: 734. DOI: 10.3390/vaccines9070734
59. Au L., Larkin J., Turajlic S. Relatlimab and nivolumab in the treatment of melanoma // *Cell*. – 2022. – Vol. 185, No. 26. – P. 4866–4869. DOI: 10.1016/j.cell.2022.12.003
60. Chen X.Y., Li Y.D., Xie Y., Cao L.Q., Ashby C.R. Jr, Zhao H., Chen Z.S. Nivolumab and relatlimab for the treatment of melanoma // *Drugs Today (Barc)*. – 2023. – Vol. 59, No. 2. – P. 91–104. DOI: 10.1358/dot.2023.59.2.3509756
61. Amaria R.N., Postow M., Burton E.M., Tetzlaff M.T., Ross M.I., Torres-Cabala C., Glitza I.C., Duan F., Milton D.R., Busam K., Simpson L., McQuade J.L., Wong M.K., Gershenwald J.E., Lee J.E., Goepfert R.P., Keung E.Z., Fisher S.B., Betof-Warner A., Shoushtari A.N., Callahan M., Coit D., Bartlett E.K., Bello D., Momtaz P., Nicholas C., Gu A., Zhang X., Koriivi B.R., Patnana M., Patel S.P., Diab A., Lucci A., Prieto V.G., Davies M.A., Allison J.P., Sharma P., Wargo J.A., Ariyan C., Tawbi H.A. Neoadjuvant relatlimab and nivolumab in resectable melanoma // *Nature*. – 2022. – Vol. 611, No. 7934. – P. 155–160. DOI: 10.1038/s41586-022-05368-8
62. Tawbi H.A., Schadendorf D., Lipson E.J., Ascierto P.A., Matamala L., Castillo Gutiérrez E., Rutkowski P., Gogas H.J., Lao C.D., De Menezes J.J., Dalle S., Arance A., Grob J.J., Srivastava S., Abaskharoun M., Hamilton M., Keidel S., Simonsen K.L., Sobieski A.M., Li B., Hodi F.S., Long G.V. Relatlimab and Nivolumab versus Nivolumab in untreated advanced melanoma // *N Engl J Med*. – 2022. – Vol. 386, No. 1. – P. 24–34. DOI: 10.1056/NEJMoa2109970
63. Diaz R.J., Ali S., Qadir M.G., De La Fuente M.I., Ivan M.E., Komotar R.J. The role of bevacizumab in the treatment of glioblastoma // *J Neurooncol*. – 2017. – Vol. 133, No. 3. – P. 455–467. DOI: 10.1007/s11060-017-2477-x
64. Halmos B., Burke T., Kalyvas C., Vandormael K., Frederickson A., Piperdi B. Pembrolizumab+chemotherapy versus atezolizumab+chemotherapy+/-bevacizumab for the first-line treatment of non-squamous NSCLC: A matching-adjusted indirect comparison // *Lung Cancer*. – 2021. – Vol. 155. – P. 175–182. DOI: 10.1016/j.lungcan.2021.03.020
65. Li M., Kroetz D.L. Bevacizumab-induced hypertension: Clinical presentation and molecular understanding // *Pharmacol Ther*. – 2018. – Vol. 182. – P. 152–160. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2017.08.012
66. Rosen L.S., Jacobs I.A., Burkes R.L. Bevacizumab in colorectal cancer: current role in treatment and the potential of biosimilars // *Target Oncol*. – 2017. – Vol. 12, No. 5. – P. 599–610. DOI: 10.1007/s11523-017-0518-1
67. Garcia J., Hurwitz H.I., Sandler A.B., Miles D., Coleman R.L., Deurloo R., Chinot O.L. Bevacizumab (Avastin®) in cancer treatment: A review of 15 years of clinical experience and future outlook // *Cancer Treat Rev*. – 2020 Jun. – Vol. 86. – Art. ID: 102017. DOI: 10.1016/j.ctrv.2020.102017
68. Keam S.J. Mavacamten: First Approval // *Drugs*. – 2022. – Vol. 82, No. 10. – P. 1127–1135. DOI: 10.1007/s40265-022-01739-7
69. Langley P.C. Concerns with patient reported outcome measurement and value claims for therapy response: the case of mavacamten and symptomatic hypertrophic cardiomyopathy (SHCM) // *Innov Pharm*. – 2022. – Vol. 13, No. 2. – Art. ID: 10.24926/iip.v13i2.4861. DOI: 10.24926/iip.v13i2.4861
70. Kent C.N., Park C., Lindsley C.W. Classics in chemical neuroscience: baclofen // *ACS Chem Neurosci*. – 2020. – Vol. 11, No. 12. – P. 1740–1755. DOI: 10.1021/acscchemneuro.0c00254
71. McCormick Z.L., Chu S.K., Binler D., Neudorf D., Mathur S.N., Lee J., Marciniak C. Intrathecal versus oral Baclofen: a matched cohort study of spasticity, pain, sleep, fatigue, and quality of life // *PM R*. – 2016. – Vol. 8, No. 6. – P. 553–562. DOI: 10.1016/j.pmrj.2015.10.005
72. Romito J.W., Turner E.R., Rosener J.A., Coldiron L., Udipi A., Nohrn L., Tausiani J., Romito B.T. Baclofen therapeutics, toxicity, and withdrawal: A narrative review // *SAGE Open Med*. – 2021. – Vol. 9. – Art. ID: 20503121211022197. DOI: 10.1177/20503121211022197
73. Chavda V.P., Ajabiya J., Teli D., Bojarska J., Apostolopoulos V. Tirzepatide, a new era of dual-targeted treatment for diabetes and obesity: a mini-review // *Molecules*. – 2022. – Vol. 27, No. 13. – Art. ID: 4315. DOI: 10.3390/molecules27134315
74. Gettman L. New Drug: Tirzepatide (Mounjaro™) // *Sr Care Pharm*. – 2023. – Vol. 38, No. 2. – P. 50–62. DOI: 10.4140/TCP.n.2023.50
75. Syed Y.Y. Tirzepatide: first approval // *Drugs*. – 2022. – Vol. 82, No. 11. – P. 1213–1220. DOI: 10.1007/s40265-022-01746-8
76. Bieber T., Simpson E.L., Silverberg J.I., Thaçi D., Paul C., Pink A.E., Kataoka Y., Chu C.Y., DiBonaventura M., Rojo R., Antinew J., Ionita I., Sinclair R., Forman S., Zdybski J., Biswas P., Malhotra B., Zhang F., Valdez H. Abrocitinib versus placebo or Dupilumab for atopic dermatitis // *N Engl J Med*. – 2021. – Vol. 384, No. 12. – P. 1101–1112. DOI: 10.1056/NEJMoa2019380
77. Deeks E.D., Duggan S. Abrocitinib: first approval // *Drugs*. – 2021. – Vol. 81, No. 18. – P. 2149–2157. DOI: 10.1007/s40265-021-01638-3
78. Reich K., Thyssen J.P., Blauvelt A., Eyerich K., Soong W., Rice Z.P., Hong H.C., Katoh N., Valenzuela F.,

- DiBonaventura M., Bratt T.A., Zhang F., Clibborn C., Rojo R., Valdez H., Kerkmann U. Efficacy and safety of abrocitinib versus dupilumab in adults with moderate-to-severe atopic dermatitis: a randomised, double-blind, multicentre phase 3 trial // *Lancet*. – 2022. – Vol. 400, No. 10348. – P. 273–282. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)01199-0
79. Narayan V.M., Dinney C.P.N. Intravesical gene therapy // *Urol Clin North Am*. – 2020. – Vol. 47, No. 1. – P. 93–101. DOI: 10.1016/j.ucl.2019.09.011
80. Lee A. Nadofaragene Firadenovec: first approval // *Drugs*. – 2023. – Vol. 83, No. 4. – P. 353–357. DOI: 10.1007/s40265-023-01846-z
81. Eichler F., Duncan C., Musolino P.L., Orchard P.J., De Oliveira S., Thrasher A.J., Armant M., Dansereau C., Lund T.C., Miller W.P., Raymond G.V., Sankar R., Shah A.J., Sevin C., Gaspar H.B., Gissen P., Amartino H., Bratkovic D., Smith N.J.C., Paker A.M., Shamir E., O'Meara T., Davidson D., Aubourg P., Williams D.A. Hematopoietic stem-cell gene therapy for cerebral adrenoleukodystrophy // *N Engl J Med*. – 2017. – Vol. 377, No. 17. – P. 1630–1638. DOI: 10.1056/NEJMoa1700554
82. Ma C.Y., Li C., Zhou X., Zhang Z., Jiang H., Liu H., Chen H.J., Tse H.F., Liao C., Lian Q. Management of adrenoleukodystrophy: From pre-clinical studies to the development of new therapies // *Biomed Pharmacother*. – 2021. – Vol. 143. – Art. ID: 112214. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112214

АВТОРЫ

Куркин Денис Владимирович – доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; директор научно-образовательного института «Институт фармации им. Н.П. Кравкова», ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425. E-mail: strannik986@mail.ru

Морковин Евгений Игоревич – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий лабораторией нейрпсихофармакологии НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7119-3546. E-mail: e.i.morkovin@gmail.com

Бакулин Дмитрий Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-4694-3066. E-mail: mbfdoc@gmail.com

Горбунова Юлия Васильевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425. E-mail: yvgorbunova@yandex.ru

Колосов Юрий Анатольевич – кандидат медицинских наук, доцент, заместитель директора по учебной работе научно-образовательного института «Институт фармации им. Н.П. Кравкова», ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-1506-2565. E-mail: tronk79@gmail.com

Джавахян Марина Аркадьевна – доктор фармацевтических наук, доцент, главный научный сотрудник, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ВИЛАР); заместитель директора по разработке и внедрению научно-образовательного института «Институт фармации им. Н.П. Кравкова», ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-2673-6203. E-mail: akopovamarina13@mail.ru

Макаренко Игорь Евгеньевич – кандидат медицинских наук, руководитель медицинского департамента, ЗАО «Фарм-Холдинг»; научный сотрудник ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-2308-0608. E-mail: Igor.Makarenko@geropharm.com

Драй Роман Васильевич – кандидат медицинских наук, директор, ЗАО «Фарм-Холдинг». ORCID ID: 0000-0003-4594-6097. E-mail: roman.drai@geropharm.com

Заборовский Андрей Владимирович – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой фармакологии, ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7923-9916. E-mail: azabor@mail.ru

Шаталова Ольга Викторовна – доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7311-4549. E-mail: shov_med@mail.ru

Стрыгин Андрей Валерьевич – кандидат медицинских наук, доцент, заместитель директора НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-6997-1601. E-mail: drumsav@mail.ru

Петров Владимир Иванович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой клинической фармакологии и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; директор НЦИЛС ВолгГМУ; главный внештатный специалист-клинический фармаколог Министерства здравоохранения РФ, заслуженный деятель науки РФ, заслуженный врач РФ. ORCID ID: 0000-0002-0258-4092. E-mail: brain@sprintnet.ru

Плетень Анатолий Петрович – доктор биологических наук, профессор кафедры биологической химии ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. E-mail: pleatol@mail.ru

Прокопов Алексей Александрович – доктор химических наук, доцент, заведующий кафедрой общей и биорганической химии ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-0099-3690. E-mail: pral@mail.ru

Татаренко-Козмина Татьяна Юрьевна – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой медицинской биологии с основами клеточной и молекулярной биотехнологии НОИ «Клиническая медицина им. Н.А. Семашко», ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. ORCID ID: 0009-0000-8569-9209. E-mail: kosmtina025@gmail.com

УДК 616.379:615.322.5



Нейропротективные свойства ГАМК и её производных при диабетической энцефалопатии у старых животных

И.Н. Тюренков¹, Д.А. Бакулин¹, А.В. Смирнов^{1,2}, М.Р. Экова^{1,2}, А.И. Бисинбекова^{1,2}, Г.Л. Снигур^{1,2}, Ю.И. Великородная^{1,2}, Е.И. Морковин^{1,2}, Д.В. Верхоляк¹, О.С. Васильева³

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1

² Государственное бюджетное учреждение «Волгоградский медицинский научный центр»,

400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена»

191186, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. р. Мойки, д. 48

E-mail: mbfdoc@gmail.com

Получена 26.12.2022

После рецензирования 15.06.2023

Принята к печати 11.08.2023

Цель. Оценить нейропротекторные свойства ГАМК и её структурных аналогов на старых животных после продолжительной гипергликемии (7 мес).

Материалы и методы. Сахарный диабет моделировали на белых аутбредных крысах-самцах в возрасте 12 мес посредством введения комбинации стрептозотоцина (65 мг/кг) и никотинамида (230 мг/кг). Через 6 мес для исследования были отобраны животные с уровнем постпрандиальной гликемии между 11 и 18 ммоль/л. После формирования групп, в течение 1 мес животные соответственно получали ГАМК и ГАМК-ергические соединения (композиция МФБА и ФПС), контрольная группа получала физиологический раствор. После лечения был выполнен пероральный тест на толерантность к глюкозе и комплекс поведенческих тестов, направленных на изучение сенсорно-моторных (Открытое поле, Адгезивный тест, Ротарод) и когнитивных функций (Распознавание нового объекта и Водный лабиринт Морриса), а также проведена оценка функционального состояния эндотелия. Далее был произведен забор образцов крови и тканей головного мозга (ГМ) для биохимического и иммуноферментного (уровень глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1) и фактора некроза опухоли альфа (ФНО-α) в сыворотке и уровень белка Клото, BDNF, Nrf2, NF-κB и малонового диальдегида (МДА) в гомогенатах ГМ), а также для морфологического анализа изменений нейронов CA1 и CA3 зон гиппокампа и соматосенсорной коры.

Результаты. ГАМК и композиции с её производными оказали выраженное нейропротекторное действие у старых животных с продолжительной гипергликемией. Гипогликемическое действие исследуемых композиций сопровождалось повышением продукции ГПП-1. У животных с СД после 6 нед введения исследуемых веществ регистрировали более высокие показатели сенсорно-моторных и когнитивных функций и меньшие структурные повреждения сенсорно-моторной коры и гиппокампа ГМ. Эти эффекты могут быть обусловлены более высоким уровнем белка Клото, BDNF, Nrf2 и NF-κB, а также более низким уровнем NF-κB, что может лежать в основе подавления окислительного стресса, снижения МДА и воспаления (TNF-α).

Заключение. ГАМК и её композиции у старых животных (19 мес) после 6 нед введения значительно улучшали сенсорно-моторные и когнитивные функции, уменьшали негативные структурные изменения в гиппокампе и соматосенсорной коре ГМ.

Ключевые слова: ГАМК; белок Клото; сахарный диабет; стрептозотцин; NF-κB; Nrf2; ГПП-1; эндотелий; гиппокамп

Список сокращений: BDNF – нейротрофический фактор мозга; eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота; ГМ – головной мозг; NF-κB – ядерный фактор каппа В; Nrf2 – ядерный фактор, родственник эритроидному фактору 2; STZ-NA – модель стрептозотцин-никотинамидного диабета; ФНО-α – фактор некроза опухоли альфа; vWF – фактор Виллибранта; БК – белок Клото; ГАМК – гамма-аминомасляная кислота; ГПП-1 – глюкагоноподобный пептид-1; ИД – индекс дискриминации в тесте Распознавания нового объекта; ИФА – иммуноферментный анализ; МК – мозговой кровоток; ОП – открытое поле; ПТТГ – пероральный тест на толерантность к глюкозе; РНО – тест Распознавание нового объекта; СД – сахарный диабет; ЦЭК – циркулирующие эндотелиальные клетки.

Для цитирования: И.Н. Тюренков, Д.А. Бакулин, А.В. Смирнов, М.Р. Экова, А.И. Бисинбекова, Г.Л. Снигур, Ю.И. Великородная, Е.И. Морковин, Д.В. Верхоляк, О.С. Васильева. Нейропротективные свойства ГАМК и её производных при диабетической энцефалопатии у старых животных. *Фармация и фармакология*. 2023;11(3):211-227. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-3-211-227

© И.Н. Тюренков, Д.А. Бакулин, А.В. Смирнов, М.Р. Экова, А.И. Бисинбекова, Г.Л. Снигур, Ю.И. Великородная, Е.И. Морковин, Д.В. Верхоляк, О.С. Васильева, 2023

For citation: I.N. Tyurenkov, D.A. Bakulin, A.V. Smirnov, M.R. Ekova, A.I. Bisinbekova, G.L. Snigur, Yu.I. Velikorodnaya, E.I. Morkovin, D.V. Verkholyak, O.S. Vasilyeva. Neuroprotective properties of GABA and its derivatives in diabetic encephalopathy in old animals. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(3):211-227. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-3-211-227

Neuroprotective properties of GABA and its derivatives in diabetic encephalopathy in old animals

I.N. Tyurenkov¹, D.A. Bakulin¹, A.V. Smirnov^{1,2}, M.R. Ekova^{1,2}, A.I. Bisinbekova^{1,2}, G.L. Snigur^{1,2}, Yu.I. Velikorodnaya^{1,2}, E.I. Morkovin^{1,2}, D.V. Verkholyak¹, O.S. Vasilyeva³

¹ Volgograd State Medical University,

1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

² Volgograd Medical Research Center,

1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

³ Herzen Russian State Pedagogical University,

48, Moika Embankment, St. Petersburg, Russia, 191186

E-mail: mbfdoc@gmail.com

Received 26 Dec 2022

After peer review 15 June 2023

Accepted 11 July 2023

The aim of the work was to evaluate the GABA neuroprotective properties and its structural analogues in old animals after seven months of hyperglycemia.

Materials and methods. Diabetes mellitus was modeled in white outbred male rats (12 months old) by the administration of a streptozotocin (65 mg/kg) and nicotinamide (230 mg/kg) combination. After 6 months, the animals with a postprandial glycemia level between 11 and 18 mmol/l were selected for the study. After the groups had been formed, the animals were administered with GABA and GABAergic compounds (Compositions MPB A and PPC), respectively, for 1 month, the control group animals were administered with saline. After the treatment, an oral glucose tolerance test and a set of behavioral tests aimed at studying sensory-motor (Open Field, Adhesion test, Rotarod) and cognitive functions (New Object Recognition and Morris Water Maze), as well as the functional state evaluation of the endothelium were performed. Further on, sampling of blood and brain tissues for a biochemical and enzyme immunoassay (the level of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and TNF- α in serum and the level of Klotho protein, BDNF, Nrf2, NF- κ B and malondialdehyde (MDA) in brain homogenates), as well as a morphological analysis of changes in CA1 and CA3 neurons of the hippocampus and somatosensory cortex, was carried out.

Results. GABA and compositions with its derivatives had a pronounced neuroprotective effect in old animals with prolonged hyperglycemia. The hypoglycemic effect of the studied compositions was accompanied by an increase in the production of GLP-1. In the animals with DM, after 6 weeks of the test substances administration, higher rates of sensory-motor and cognitive functions and a less structural damage to the sensory-motor cortex and the brain hippocampus were recorded. These effects may be due to higher levels of the Klotho proteins, Nrf2 and BDNF, as well as lower levels of NF- κ B, which may underlie the suppression of the oxidative stress, the reduction of MDA and inflammation (TNF- α).

Conclusion. After 6 weeks of the administration, GABA and its compositions in old animals (19 months old) significantly improved sensory-motor and cognitive functions, reduced negative structural changes in the hippocampus and somatosensory cerebral cortex.

Keywords: GABA; Klotho protein; diabetes mellitus; streptozotocin; NF- κ B; Nrf2; GLP-1; endothelium; hippocampus

Abbreviations: BDNF – Brain-Derived Neurotrophic Factor; eNOS – endothelial nitric oxide synthase; NF- κ B – nuclear factor- κ B; Nrf2 – nuclear factor erythroid 2-related factor 2; STZ-NA – the streptozotocin-nicotinamide diabetes model; TNF α – tumour necrosis factor alpha; vWF – von Willebrand's factor; KP – Klotho protein; GABA – gamma-amino-butyric acid; GLP-1 – glucagon-like peptide-1; DI – Discrimination index (New Object Recognition test); ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay; CBF – cerebral blood flow; OF – Open Field; OGTT – oral glucose tolerance test; NOR – New Object Recognition; DM – diabetes mellitus; CEC – circulating endothelial cells.

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет (СД) – самое распространённое и прогрессирующее эндокринное заболевание. По оценкам Международной диабетической федерации (IDF) в настоящее время среди населения Земли в возрасте 20–79 лет зарегистрировано 537 млн. человек с СД, а к 2030 году численность достигнет 643, а затем и 783 млн. к 2045 году [1]. С увеличением числа больных с СД неуклонно растёт распространённость его осложнений, которые приводят к ранней инвалидизации и преждевременной смертности, также растут расходы на лечение [2, 3].

Гипергликемия провоцирует и усугубляет

множество патологических состояний практически во всех органах и тканях. Значительную роль длительная гипергликемия играет в развитии энцефалопатии, затрагивающей психоэмоциональные, сенсорно-моторные и когнитивные функции особенно у взрослых лиц и лиц пожилого возраста [4–6]. Установлено, что пациенты с диабетом более подвержены когнитивным нарушениям [7–9]. Так Хие М. с соавт. (2019) на основе метаанализа 122 исследований показали, что СД повышает риск развития когнитивных нарушений и деменции в 1,25–1,9 раза по сравнению с лицами без СД [7]. Поэтому важными задачами в лечении СД являются не только

нормализация гликемии, но и предупреждение и лечение его осложнений.

Длительная гипергликемия при СД провоцирует не только глюко- и липотоксичность, но также усиливает окислительный и нитрозативный стресс, воспаление и другие патологические процессы, что может приводить к ускорению апоптоза и гибели интенсивно функционирующих клеток в различных органах и тканях, а также ускорению процессов старения. Среди всех органов, наиболее чувствительным и уязвимым к указанным патологическим факторам является головной мозг (ГМ), особенно такие структуры, как гиппокамп и кора [10]. Исходя из вышесказанного, авторы пришли к выводу, что необходимо исследовать энцефалопатические эффекты, связанные с гипергликемией, при этом сосредоточившись на гиппокампе и соматосенсорной коре.

В последние годы коренным образом поменялись наши представления о физиологической роли ГАМК-ергической системы, которую первоначально рассматривали как основную тормозную систему, играющую решающую роль в обеспечении различных функций ГМ. В настоящее время ГАМК-рецепторы и синтезирующий ГАМК фермент (глутаматдекарбоксилаза) обнаружены в тканях сердечно-сосудистой и дыхательной системы, в иммунокомпетентных клетках, желудочно-кишечном тракте и др. [11, 12]. В β -клетках поджелудочной железы плотность ГАМК-рецепторов сопоставима с таковой в ГМ [13]. В многочисленных публикациях также отражено влияние ГАМК-ергических веществ на функцию поджелудочной железы [11, 12, 14]. Производные ГАМК широко используются в клинике как лекарственные средства с нейро- и психотропным действием и продолжают активно изучаться в экспериментальной фармакологии. Таким образом, поскольку СД сопряжён со снижением когнитивной функции и структурными изменениями в ГМ [4–6], представляется перспективным проведение поиска в ряду веществ с ГАМК-ергическим действием средств для коррекции диабетической энцефалопатии, вызванной длительной гипергликемией.

В ходе предварительного скрининга среди производных линейной и циклической ГАМК были выделены вещества с панкреопротекторным действием (Рис. 1). Полученные результаты стали основой выбора этих композиций для изучения их влияния на функцию и структуру ГМ старых животных с длительной гипергликемией.

ЦЕЛЬ. Оценить нейропротекторные свойства ГАМК и её структурных аналогов на старых животных после продолжительной гипергликемии (7 мес).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Модельные объекты

Все эксперименты были выполнены в соответствии с законодательством Российской Федерации и техническими стандартами

Евразийского экономического союза по надлежащей лабораторной практике (ГОСТ Р 53434-2009, ГОСТ Р 51000.4-2011). Дизайн исследования и протокол были одобрены Локальным этическим комитетом Волгоградского государственного медицинского университета, протокол № 2022/116 от 04.03.2022 г. (регистрационный номер IRB 00005839 IORG 0004900 [ONHRP]).

Экспериментальное исследование выполнено на 50 беспородных лабораторных крысах, полученных из питомника «Столбовая» (Московская область, Россия), в возрасте 4–5 мес. Животных содержали в виварии Научного центра инновационных лекарственных средств Волгоградского государственного медицинского университета (НЦИЛС ВолгГМУ) при температуре 20–22°C, влажности воздуха 40–60%, световом режиме 12/12 ч и со свободным доступом к воде и пище (ГОСТ Р 51849-2001) (ООО «Лабораторкорм», Москва, Россия). К началу эксперимента, на момент введения стрептозотоцина животные достигли возраста 12 мес.

Исследуемые соединения

Композиция МФБА (композиция линейного производного ГАМК с L-аргинином) проявляет выраженные эндотелиопротекторные свойства [15, 16]. Что также указывает на целесообразность его изучения в качестве средства для профилактики сосудистых осложнений СД (Рис. 1).

Композиция ФПС (композиция производного 2-пирролидона с янтарной кислотой) обладает ноотропным, нейро-, кардиопротекторным действием [17, 18].

Обе композиции были отобраны среди различных производных ГАМК в предварительных скрининговых исследованиях по изучению их панкреопротекторного действия на аллоксановой модели СД по тестам выживаемости животных, сохранению массы β -клеток, способности стимулировать продукцию глюкагон-подобного пептида-1 (ГПП-1) и улучшать утилизацию глюкозы.

ГАМК была выбрана как референтное вещество для сравнения панкреопротекторных свойств, которые для неё хорошо отражены в литературе [12, 14].

Моделирование патологии

СД моделировали внутрибрюшинным (в/б) введением стрептозотоцина – 65 мг/кг с предварительным (за 15 мин) введением никотинамида (230 мг/кг, в/б). Стрептозотин разводили в холодном цитратном буфере (1 мМ, pH 4,5), никотинамид – в растворе NaCl (0,9%). Через 3 дня у всех животных определяли уровень глюкозы в крови. Затем для эксперимента были отобраны 50 особей с постпрандиальным уровнем гликемии больше 11 и меньше 18 ммоль/л. Уровень глюкозы измеряли с помощью глюкометра Contour TS и соответствующих тест-полосок (Bayer). Кровь для измерений забирали при пункции подязычной вены.

Дизайн эксперимента

В дальнейшем отобранные 50 животных в течение 6 мес (после моделирования СД) находились под постоянным наблюдением в виварии НЦИЛС ВолгГМУ. Каждые 4 недели проводили измерение уровня гликемии. В течение данного периода наблюдения продолжительный СД вызывал гибель 6 (12%) животных, а у 4 (8%) значительно повысился уровень постпрандиальной гликемии (>18 ммоль/л), и они были исключены из исследования до распределения на группы. После 6 мес у крыс оценивали тощаковую гликемию (через 4 ч после забора корма) и проводили пероральный тест на толерантность к глюкозе (ПТТГ), при котором глюкозу вводили в дозе 4 г/кг (*per os*). Далее крыс случайным образом распределяли на 4 равные группы ($n=10$) со средним сопоставимым уровнем гликемии (от 7,5 до 9,5 ммоль/л после 4 ч голодания). После этого начинали ежедневно и непрерывно вводить ГАМК, МФБА и ФПС в дозе 1000, 20 и 50 мг/кг (*per os*) соответственно в течение 30 дней и затем ещё 2 недели, в течение которых проводили оценку состояния животных. Группе негативного контроля (СД+NaCl 0,9%) в качестве лечения аналогично вводили физиологический раствор (0,9% NaCl) в объеме 0,1 мл/100 г ($n=10$). Для позитивного контроля использовали крыс без СД (интактных) того же возраста из той же партии завоза животных ($n=10$).

После 30 дней введения исследуемых веществ в течение 12 дней поочередно проводили следующие манипуляции: 1-й день ПТТГ – с определением глюкозы и ГПП-1, на 2–3-й день оценивали сенсорно-моторную функцию в тестах Открытое поле (ОП), Адгезивный тест, и координацию движений в тесте Ротарод; на 4-й день проводили тест РНО; в 5–9-й день тест Водный лабиринт Морриса; на 10–12-й день после тестирования эндотелиальной функции проводили эвтаназию с забором крови и ГМ для морфологического исследования и иммуноферментного анализа гомогенатов.

По совокупности исследуемых показателей давалась комплексная оценка морфофункционального состояния ГМ у старых животных с длительной гипергликемией, получавших в течение 6 нед производные ГАМК.

Разработанный дизайн исследования приведен на рисунке 2.

Оценка психоневрологического дефицита

Двигательную и исследовательскую активность животных оценивали в тесте ОП. Для этого использовали установку «Открытое поле» (НПК «Открытая Наука», Россия). Животное помещали в центр арены и с использованием web-камеры вели наблюдение за его поведением в течение 3-х мин, фиксируя количество пересечённых квадратов (пройденное расстояние) – показатель двигательной активности (ДА), а сумму актов «стойки» и число обследованных отверстий-норок оценивали как исследовательскую активность (ИА) животных.

Адгезивный тест применяли для оценки сенсорной функции и мелкой моторики. В качестве инородного предмета на волярную поверхность передних лап животного помещали стикеры – квадратные отрезки лейкопластыря на тканевой основе (6×6 мм, Верофарм, Россия), а затем в течение 3 мин фиксировали время обнаружения (сенсорная функция) и время снятия (моторная функция) стикера.

Координацию движений оценивали в тесте Ротарод (установка производства ООО «Нейроботикс», Россия), в котором фиксировали суммарную длительность удержания животного на вращающемся (25 об/мин) стержне за 3 попытки.

Тест Распознавания новых объектов (РНО) основан на естественной потребности животных исследовать новые объекты и не требующий наличия внешней мотивации, используется для оценки когнитивной функции (способности выявлять и сопоставлять информацию, хранящуюся в краткосрочной памяти) и был выполнен в 2 этапа: 1-й этап – ознакомление в домашней клетке (545×395×200 мм) с 2-мя одинаковыми объектами (А1 и А2) в течение 3 мин. Затем через 60 мин после ознакомления выполняли 2-й этап, когда животного сажали на 3 мин в ту же клетку, но один из старых (изученных) объектов (А2) заменяли на новый (объект Б). По результатам теста рассчитывали индекс дискриминации (ИД) – время, затраченное на исследование нового объекта (Б) минус время, затраченное на исследование старого объекта (А) во второй посадке.

После курса лечения обучаемость и сохранение долговременной пространственной памяти оценивали в Водном лабиринте Морриса. Установка «Водный лабиринт (тест Морриса)» (НПК «Открытая Наука», Россия). Животных в течение 5 сут (по 4 попытки в день) обучали поиску затопленной платформы по ориентирам на стенке установки, помещая крысу в разные стартовые точки относительно платформы. В данном исследовании фиксировали продолжительность поиска затопленной платформы при первой посадке в течение 5 дней эксперимента.

Оценка функционального состояния эндотелия мозговых сосудов

Функциональное состояние эндотелия тестировали по определению: эндотелий-зависимой вазодилатации и антитромботической функции, по числу десквамированных эндотелиоцитов, по уровню фактора фон Виллебранда (vWF) в сыворотке крови.

Эндотелий-зависимую вазодилатацию оценивали у наркотизированных животных (хлоралгидрат 400 мг/кг) по относительным изменениям уровня мозгового кровотока в ответ на внутривенное введение ацетилхолина (0,01 мг/кг, Acros Organics, США; активатор eNOS). Введение ацетилхолина вызывало повышение продукции NO, эндотелий-зависимую вазодилатацию сосудов и увеличение мозгового кровотока, который определяли в проекции средней мозговой

артерии методом ультразвуковой доплерографии Минимакс-Допплер_K (ООО «СП МИНИМАКС», Россия).

Антитромботическую функцию оценивали по времени развития полного тромбоза, т.е. прекращения кровотока по сонной артерии при аппликации на её адвентицию раствора хлорида железа (III).

Количество дескамированных (циркулирующих) эндотелиальных клеток (ЦЭК) в крови определяли по методу Hladovec J. [19]. Повышение числа ЦЭК позволяло судить о выраженности эндотелиальной дисфункции, степени повреждения эндотелия и его репаративной активности.

Фактор фон Виллебранда (vWF), который продуцируется эндотелием, определяли в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА) как фактор, при повышении которого можно судить о повреждении эндотелия и эндотелиальной дисфункции. Повышенный уровень vWF наблюдали при СД и является предиктором смертности от сердечно-сосудистых заболеваний [20].

Подготовка гомогенатов

Образцы ГМ гомогенизировали в лизис-буфере (1 мл лизирующего буфера на 50 мг образца ткани) в стеклянном гомогенизаторе на льду. Полученную суспензию обрабатывали ультразвуком при помощи ультразвукового диспергатора до её осветления, затем растворы центрифугировали в течение 5 мин при 10000 g. Полученный супернатант использовали для проведения иммуноферментного и биохимического анализа.

Проведение биохимического и иммуноферментного анализа

Концентрацию малонового диальдегида (МДА) в гомогенатах определяли с использованием реакции с тиобарбитуровой кислотой.

ИФА проводили с использованием готовых наборов (Cloud-Clone Corp., США) в соответствии с инструкциями фирмы-производителя. Для анализа использовали супернатант гомогенатов ГМ и сыворотку крови. Оптическую плотность измеряли с помощью микропланшетного автоматического анализатора SPECTROstar Nano («BMGLabtech», Германия) при длине волны 450 нм.

Морфологическое исследование

Для морфологического исследования ГМ фиксировали в течение 24 ч в 10% растворе нейтрального забуференного формалина (pH 7,4) при 22–24°C. Затем образцы обезжизняли в батарее спиртов восходящей крепости, просветляли в хлороформе с использованием гистопроцессора Cytadel 2000 (Shendon, Великобритания) и заключали в парафиновую среду HistoMix (Биовитрум, Россия). Парафиновые блоки резали на ротационном микротоме HM340E (MICROM, Германия), получали срезы толщиной 5 мкм и монтировали их на стекле, обработанные поли-L-лизин (Menzel,

Германия). Окраску проводили тионином по методу Ниссля.

Оценивали структурные изменения коры ГМ, удельное количество гиперхромных нейронов (обратимое повреждение) и гиперхромных сморщенных нейронов (необратимое повреждение).

Гистологические срезы фотографировали цифровой камерой AxioCam 305 color (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия) на базе микроскопа AxioImager A2 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия).

Статистическая обработка

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами описательной и аналитической статистики с применением программного обеспечения Prism 6 (GraphPad Software Inc., США). Распределение количественных показателей оценивали с использованием критерия Шапиро–Уилка. Межгрупповые различия оценивали с помощью критерия Краскела–Уоллиса и апостериорного критерия Данна. Цифровые значения представляли в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего арифметического ($M \pm m$). Для выражения удельного количества нейронов пирамидного слоя гиппокампа указывали интерквартильный размах Me (Q1; Q3), где Me – медиана, Q1 – 25 перцентиль, Q3 – 75 перцентиль. Различия признавали значимыми при $p < 0,05$.

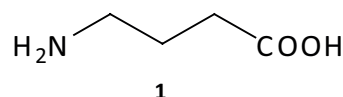
РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценка психоневрологического дефицита

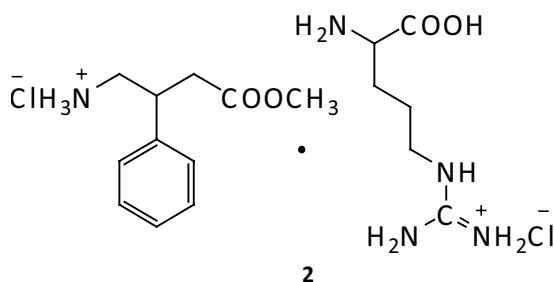
Предполагается, что при СД гипергликемия является основным патогенетическим фактором, способствующим ухудшению когнитивных функций, нейродегенерации, прогрессу старения, атрофии ГМ и деменции [21]. Используемый комплекс тестов был выбран с целью фиксирования нарушения, соответствующего клиническим последствиям для ГМ со стороны длительной неконтролируемой гипергликемии.

У животных в возрасте 19 мес с длительной гипергликемией (7 мес) в тесте ОП регистрировали более низкую двигательную активность и значительно сниженное исследовательское поведение, чем у интактных животных того же возраста. Во всех опытных группах, получавших лечение, регистрировали более высокие показатели исследовательской активности. В группе, которая получала композицию производного 2-пирролидона (ФПС) значительно выше была и двигательная активность (Рис. 3А).

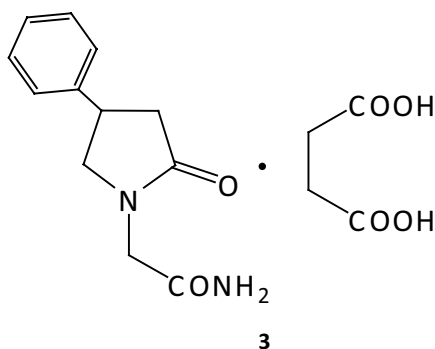
В Адгезивном тесте у животных с хронической гипергликемией без лечения наблюдали нарушения сенсорной функции и выраженное ухудшение мелкой моторики по сравнению с животными интактной группы. В группе, получавшей ФПС, время обнаружения и избавления от инородного предмета было значимо меньше, чем у животных контрольной группы (Рис. 3Б).



4-Аминобутановая кислота (ГАМК)
(Тривиальная номенклатура: γ -Аминomásляная кислота или ГАМК)



Гидрохлорид метилового эфира *DL*-4-амино-3-фенилбутановой кислоты и моногидрохлорид *L*-2-амино-5-гуанидинпентановой кислоты (моногидрохлорид *L*-аргинина) в соотношении 1:1
(Шифр соединения: МФБА)



2-(2-Оксо-4-фенилпирролидин-1-ил)ацетамид и бутандиовая (янтарная) кислота в соотношении 2:1
(Шифр соединения: ФПС)

Рисунок 1 – Исследуемые соединения

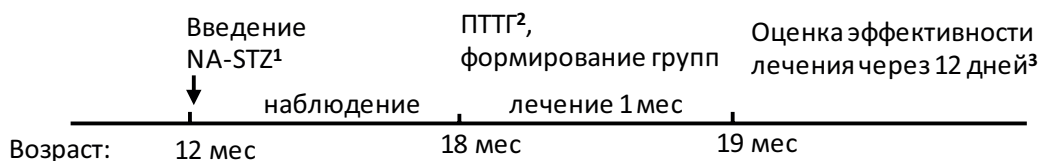


Рисунок 2 – Дизайн эксперимента

Примечание: 1 – через 3 сут после введения стрептозотоцина с никотиномидом (NA-STZ) производили отбор животных с уровнем постпрандиальной гликемии >11 и <18 ммоль/л; 2 – после 6 мес проводили пероральный тест на толерантность к глюкозе (ПТТГ) и формировали 4 группы, сопоставимые по уровню гликемии; 3 – после лечения была произведена оценка следующих показателей:

День 1. Оценка углеводного обмена (ПТТГ и определение ГПП-1);

День 2. Двигательная и исследовательская активность (Открытое поле), сенсорно-моторные нарушения (Адгезивный тест);

День 3. Координационные расстройства (Ротарод);

День 4. Оценка кратковременной памяти (Распознавание нового объекта);

День 5–9. Оценка долговременной памяти (Водный лабиринт Морриса);

День 10–12. Оценка эндотелий-зависимой вазодилатации и антитромботической функции эндотелия, эвтаназия, забор образцов крови и головного мозга для морфологического и иммуноферментного анализа (ИФА).

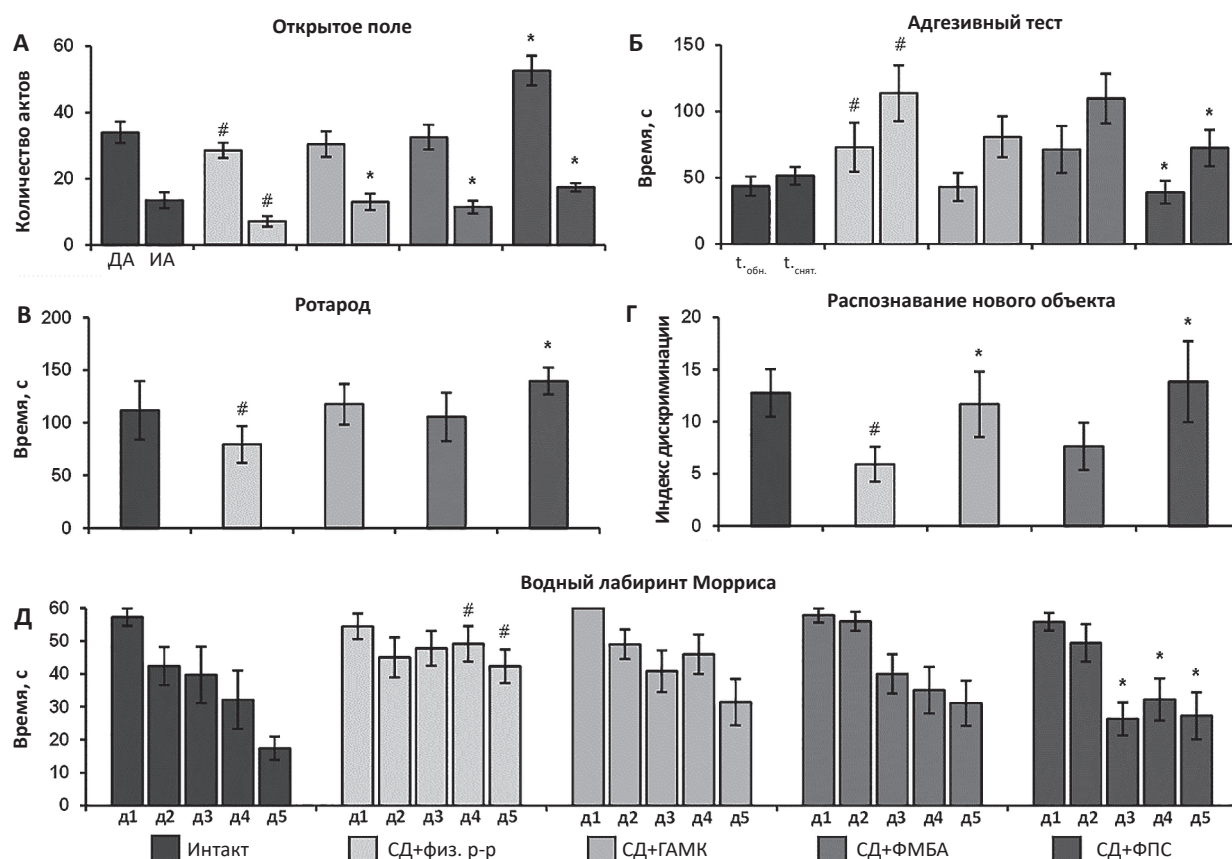


Рисунок 3 – Двигательная и исследовательская активность в тесте Открытое поле (А), среднее время обнаружения и снятия стикера в Адгезивном тесте (Б), продолжительность удержания на вращающемся стержне в тесте Ротарод (В), индекс дискриминации в тесте Распознавание нового объекта (Г) и продолжительность поиска затопленной платформы в тесте Водный лабиринт Морриса (Д)

Примечание: # – различия статистически значимы по сравнению с животными группы «Интакт» ($p < 0,05$); * – различия статистически значимы по сравнению с животными группы «СД+физ. р-р» ($p < 0,05$) (критерий Краскела-Уоллиса и Данна); данные представлены как $M \pm m$; В тесте Открытое поле: ДА – двигательная активность (левые столбики), количество пересеченных за 3 минуты секторов, ИА – исследовательская активность (правые столбики), сумма исследовательских актов; в Адгезивном тесте: $t_{\text{обн.}}$ – среднее время обнаружения стикера на ладонной поверхности передних лап (левые столбики), $t_{\text{снт.}}$ – среднее время снятия стикера (правые столбики); в тесте Водный лабиринт Морриса показана продолжительность поиска затопленной платформы при первой посадке в течение 5 дней эксперимента.

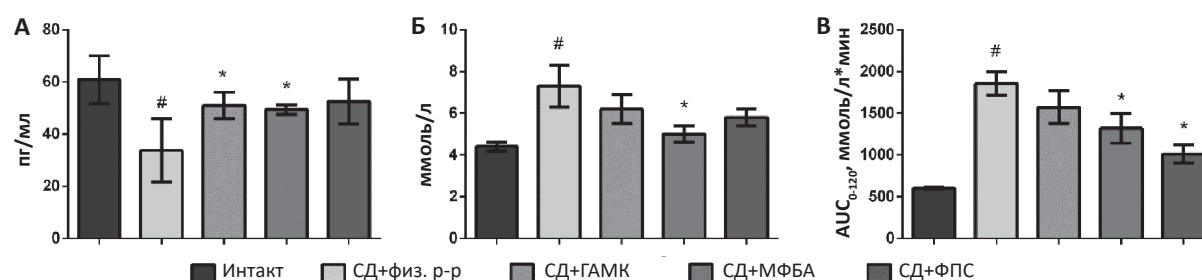


Рисунок 4 – Уровень ГПП-1 в сыворотке крови (А), уровень глюкозы в крови натощак (Б) и площадь под кривой «уровень глюкозы-время» (В)

Примечание: # – различия статистически значимы по сравнению с животными группы «Интакт» ($p < 0,05$); * – различия статистически значимы по сравнению с животными группы «СД+физ. р-р» ($p < 0,05$; критерий Краскела-Уоллиса и Данна); данные представлены как $M \pm m$.

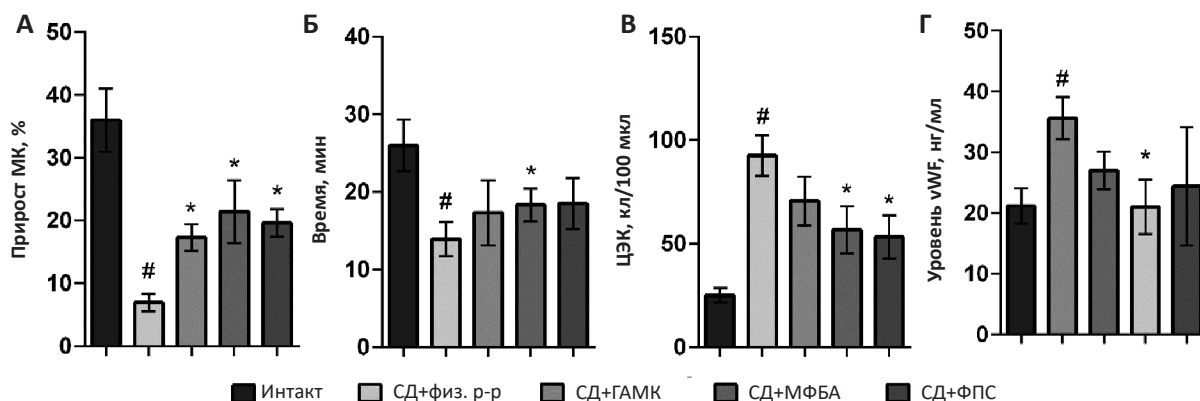


Рисунок 5 – Относительный прирост скорости мозгового кровотока после введения ацетилхолина (А), длительность тромбообразования в сонной артерии при аппликации хлорида железа (III) (Б), количество циркулирующих в плазме эндотелиальных клеток (ЦЭК) (В), сывороточный уровень фактора фон Виллебранда (vWF; Г)

Примечание: # – различия статистически значимы по сравнению с животными группы «Интакт» ($p < 0,05$); * – различия статистически значимы по сравнению с животными группы «СД+физ. р-р» ($p < 0,05$) (критерий Краскела-Уоллиса и Данна); данные представлены как $M \pm m$; МДА – малоновый диальдегид.

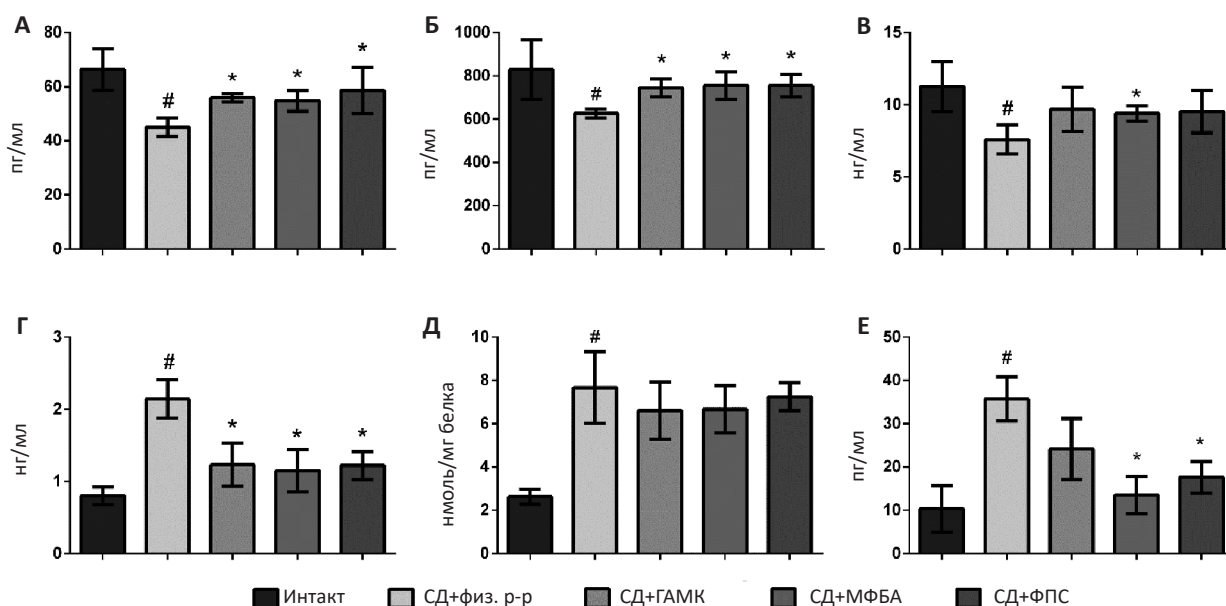


Рисунок 6 – Концентрация белка Клото (А), BDNF (Б), Nrf2 (В), Nf-kB (Г), МДА (Д) в тканях мозга и ФНО-α в сыворотке крови (Е) у животных с экспериментальным СД

Примечание: # – различия статистически значимы по сравнению с животными группы «Интакт» ($p < 0,05$); * – различия статистически значимы по сравнению с животными группы «СД+физ. р-р» ($p < 0,05$) (критерий Краскела-Уоллиса и Данна); данные представлены как $M \pm m$; МДА – малоновый диальдегид.

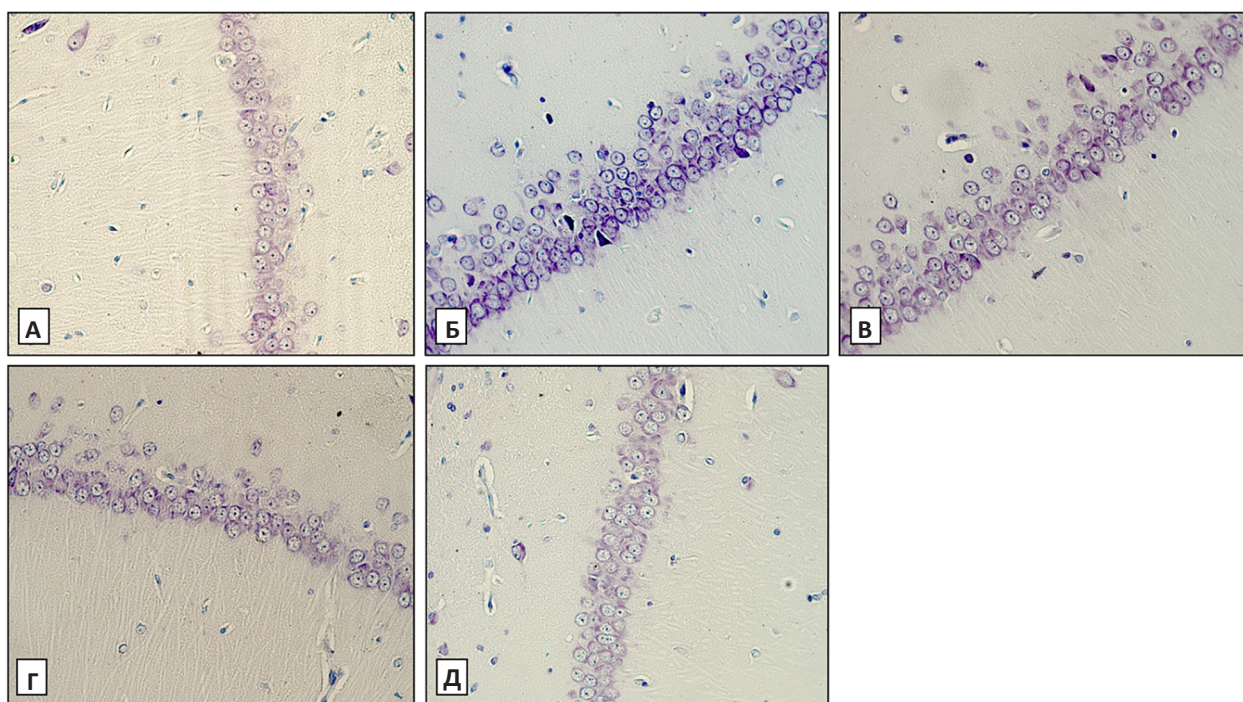


Рисунок 7 – Морфологические изменения в пирамидном слое СА1 гиппокампа

Примечание (здесь и в Рис. 8): А – Интакт; Б – СД+физ.р-р; В – СД+ГАМК; Г – СД+МФБА; Д – СД+ФПС. Окраска тионином по методу Ниссля. Ув. $\times 400$.

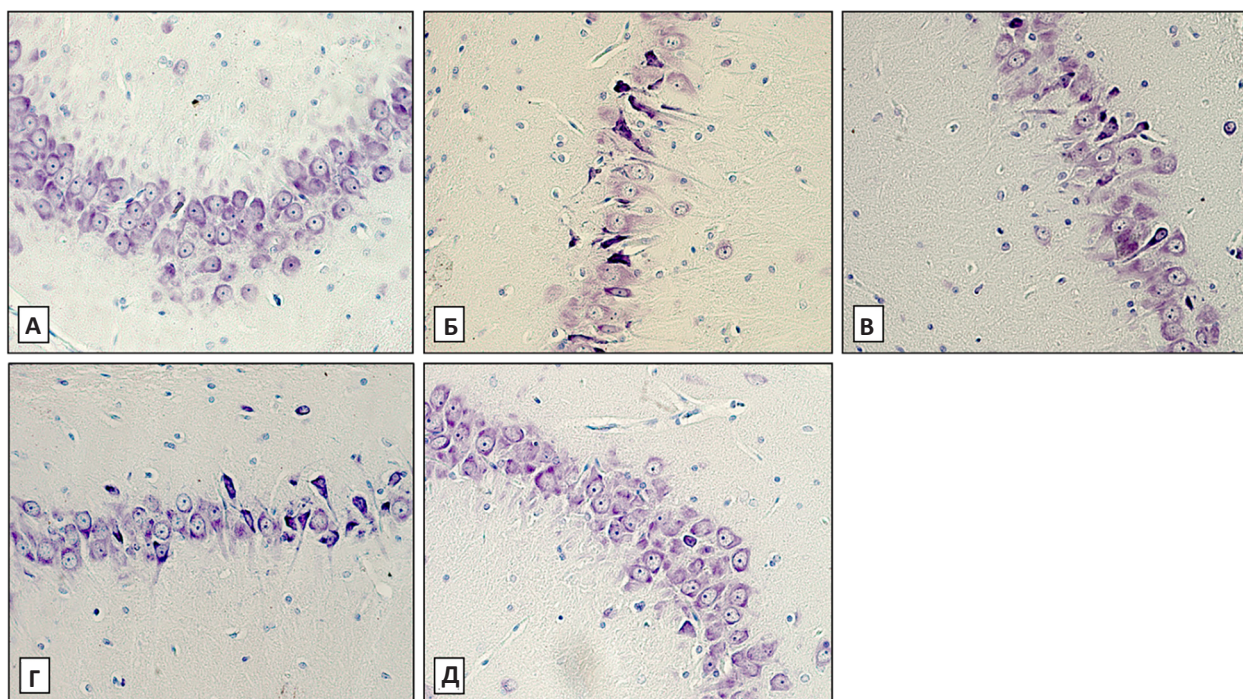


Рисунок 8 – Морфологические изменения в пирамидном слое СА3 гиппокампа

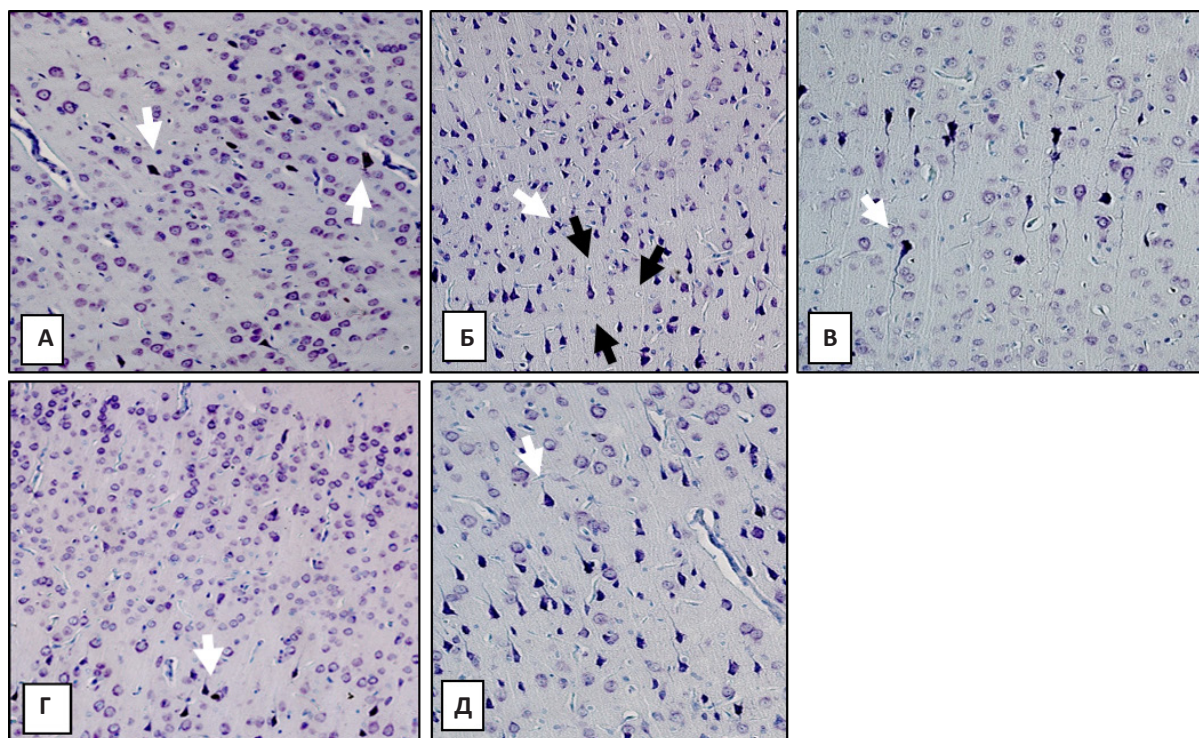


Рисунок 9 – Гистологическое строение первичной сенсомоторной коры исследуемых животных.

Примечание: А – Интакт (наличие во всех слоях единичных гиперхромных и гиперхромных сморщенных нейронов); Б – СД+физ. р-р (выраженный гиперхроматоз во всех слоях, наличие зон «выпадения» нейронов); В – СД+ГАМК (гиперхроматоз во внутреннем пирамидном слое); Г – СД+МФБА (слабовыраженный гиперхроматоз); Д – СД+ФПС (наличие в наружном зернистом, наружном пирамидном и внутреннем пирамидном слоях значительного количества сморщенных нейронов с гиперхроматозом цитоплазмы). Белые стрелки- гиперхромные сморщенные нейроны. Черные стрелки – зоны «выпадения» нейронов. Окраска тионином по методу Ниссля. Ув. $\times 200$.

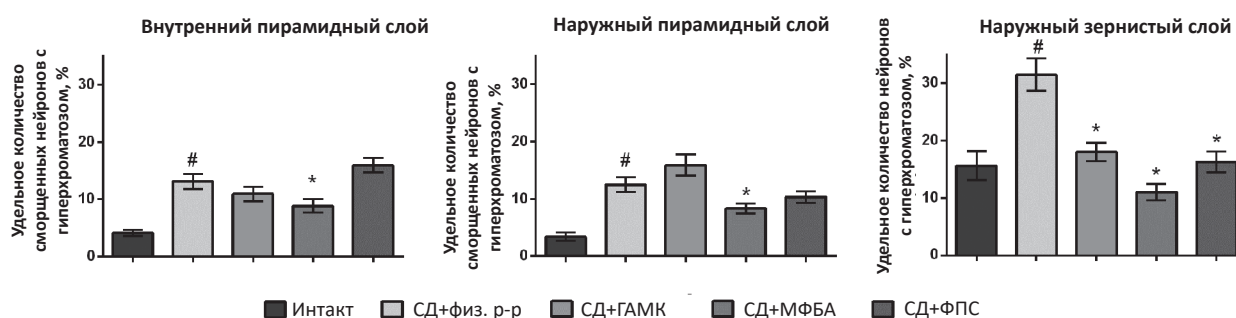


Рисунок 10 – Удельное количество гиперхромных, гиперхромно-сморщенных нейронов в первичной соматосенсорной коре ГМ крыс

Примечание: # – различия статистически значимы по сравнению с животными группы «Интакт» ($p < 0,05$); * – различия статистически значимы по сравнению с животными группы «СД+физ. р-р» ($p < 0,05$) (критерий Краскела-Уоллиса и Данна). Данные представлены как $M \pm m$.

Таблица 1 – Удельное количество нейронов пирамидного слоя гиппокампа с гиперхроматозом и сморщенных нейронов с гиперхроматозом

		Гиперхромные нейроны Ме (Q1–Q3), %			
Зона гиппокампа	Интакт	СД+физ. р-р	СД+ГАМК	СД+МФБА	СД+ФПС
CA1	0,8 (0–4,7)	11,6 (3,1–16,9) #	0 (0–0) *	0 (0–0)*	0 (0–0)*
CA3	0 (0–0)	17,5 (2,8–27,9) #	2,6 (0–18,8)	0 (0–5,9)*	0 (0–25,6)
		Гиперхромные сморщенные нейроны Ме (Q1–Q3), %			
Зона гиппокампа	Интакт	СД	СД + ГАМК	СД + ФПС	СД + МФБА
CA1	1,8 (0–4,4)	3,6 (0–9,2)	3,1 (1,9–6,9)	5,5 (0–18,4)	2 (0–10,9)
CA3	4,4 (0–11,5)	2,3 (0–21,9)	0 (0–7,8)	2,4 (0–31)	0 (0–4,2)

Примечание: # – различия статистически значимы по сравнению с животными группы «Интакт» ($p < 0,05$); * – различия статистически значимы по сравнению с животными группы «СД+физ. р-р» ($p < 0,05$) (критерий Краскела-Уоллиса и Данна); ГАМК – гамма-аминомасляная кислота; СД – сахарный диабет.

В тесте Ротарод у животных группы негативного контроля время удержания было статистически значимо меньше, чем у интактных, что свидетельствовало о нарушениях координации движений. Животные, получавшие ГАМК, МФБА и особенно ФПС дольше удерживались на вращающемся стержне (Рис. 3В).

В тесте Распознавание нового объекта отмечено значительное снижение ИД (индекса дискриминации, что указывает на нарушение кратковременной памяти) в группе животных с СД без лечения. После курсового введения у животных с СД ГАМК и ФПС регистрировали значимо большее время обследования нового объекта, по сравнению со старым объектом, т.е. животные отличались лучшей способностью выявлять и сопоставлять информацию, хранящуюся о ранее исследованном предмете (Рис. 3Г).

В тесте Водный лабиринт Морриса оценивали сохранность долговременной пространственной памяти по времени поиска затопленной платформы в течение 5 сут. В группе животных с хронической гипергликемией без лечения отмечено нарушение долговременной памяти: каждый день эксперимента в первую посадку они дольше, чем интактные, искали затопленную платформу (Рис. 3Д). В группах, получавших ГАМК, МФБА и особенно ФПС, с 3-го дня в каждую первую тестовую сессию животные быстрее, чем в контрольной группе, находили затопленную платформу, т.е. сохранность долгосрочной пространственной памяти была лучше.

Таким образом, у животных с СД в сравнении с интактными отмечались особенно выраженные нарушения когнитивной функции (Распознавание нового объекта, Водный лабиринт Морриса и ИА в ОП) и мелкой моторики (Адгезивный тест), также наблюдалось снижение двигательной активности (ОП), ухудшение координации (Ротарод) и сенсорной функции передних конечностей (Адгезивный тест).

Курсовое введение ГАМК, её линейного производного (МФБА) и особенно её циклического производного (ФПС) способствовало улучшению функционального состояния ГМ, снижая выраженность когнитивных, сенсорных и моторных нарушений у животных с длительной гипергликемией.

Влияние производных ГАМК на углеводный обмен

У животных с СД на момент оценки функционального состояния ГМ уровень ГПП-1 у контрольной группы был значимо ниже, чем у интактных животных того же возраста. У животных, получавших исследуемые вещества, уровень ГПП-1 в сыворотке крови был сопоставимо выше в среднем на 50%, чем у животных контрольной группы (Рис. 4А).

При проведении ПТТГ у животных на фоне курсового введения композиций МФБА и ФПС отмечалось нормализация углеводного обмена, что проявлялось в снижении уровня гликемии (после 4-часового голодания) и площади под кривой «уровень глюкозы-время» (Рис. 4Б и 4В).

Влияние исследуемых веществ на эндотелиальную дисфункцию

СД значительно увеличивает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, а последние повышают вероятность формирования сосудистой деменции [6, 22, 23]. При этом значительную роль в патогенезе отводят эндотелиальной дисфункции.

В настоящей работе, после оценки неврологического дефицита у данных животных, было проведено исследование функционального состояния эндотелия. У животных с СД без лечения отмечено выраженное снижение эндотелий-зависимой вазодилатации: незначительный прирост уровня мозгового кровотока в ответ на введение ацетилхолина по сравнению с животными интактной группы (Рис. 5А). У животных, которым вводили ГАМК, ФПС и особенно МФБА наблюдали значительно более выраженный прирост уровня мозгового кровотока в ответ на введение ацетилхолина, чем у контрольной группы животных.

При оценке антитромботической функции эндотелия установлено, что при аппликации хлорида железа (III) на адвентицию общей сонной артерии время остановки кровотока у животных контрольной группы было практически вдвое короче, чем у интактных (Рис. 5Б). У животных, получавших МФБА время тромбообразования было значимо больше, чем у животных контрольной группы.

Для оценки эндотелиальной дисфункции у животных с СД были использованы ещё два показателя: количество ЦЭК и фактор фон Виллебранда (vWF). Количество ЦЭК у контрольных животных с СД было в 4 раза больше, чем у интактных животных, а у животных, получавших производные ГАМК (МФБА и ФПС) количество ЦЭК было значимо меньше, чем у контрольной группы животных (Рис. 5В).

Уровень vWF у животных с СД без лечения был на 68% выше, чем у интактных животных (Рис. 5Г). У животных, получавших композицию МФБА содержание vWF в сыворотке крови было значимо меньше, чем у животных группы негативного контроля.

Таким образом, на фоне длительной гипергликемии происходит формирование выраженной эндотелиальной дисфункции, которая может лежать в основе структурно-функциональных изменений в ГМ. Исследуемые производные ГАМК (МФБА и ФПС) улучшали вазодилатирующую и антитромботическую функцию эндотелия, что может играть важную роль в адаптации и обеспечении адекватного кровотока в интенсивно функционирующих структурах.

Оценка уровня белка Клото, BDNF, Nrf2, NF-κB, ФНО-α и МДА

Литературные данные [12, 24] свидетельствуют о том, что ГАМК повышает выработку белка Клото (БК), который оказывает влияние на когнитивную функцию [25, 26]. Установлено, что основные

эффекты БК сопряжены с его влиянием на экспрессию транскрипционных ядерных факторов Nrf2 и NF-κB, играющих важную роль в развитии СД и его осложнений. Также при СД, наряду со снижением БК, отмечается и уменьшение экспрессии нейротрофического фактора (BDNF), который экспрессируется и синтезируется не только в ГМ, но и в поджелудочной железе, кишечнике и других тканях, где он играет важную роль в цитопротекции [27, 28].

По сравнению с интактными, у животных с СД без лечения в гомогенатах ГМ отмечался значимо низкий уровень БК, BDNF и транскрипционного фактора Nrf2, более высокий уровень транскрипционного фактора NF-κB, МДА, а также более высокий сывороточный уровень ФНО-α (Рис. 6). На фоне курсового ведения ГАМК, ФПС и особенно МФБА наблюдали нормализацию содержания отмеченных маркеров: БК BDNF и транскрипционных факторов, а также провоспалительного цитокина ФНО-α и основного продукта перекисного окисления липидов МДА.

Морфология гиппокампа

СД приводит к формированию структурно-функциональных изменений в ГМ. Некоторые области мозга, в первую очередь гиппокамп, особенно чувствительны к длительной гипергликемии, что является одной из причин снижения когнитивных функций [29, 30]. При этом доказана связь между степенью и продолжительностью гипергликемии и риском развития деменции у людей с СД [4].

В СА1 зоне гиппокампа старых интактных крыс большинство нейронов пирамидного слоя характеризовались близкой к округлой форме перикариона с центрально расположенным округлым светлым ядром и, как правило, хорошо выраженным ядрышком. Встречались единичные участки выпадения нейронов, нейроны с очаговым хроматолизом и сморщенные гиперхромные клетки (Рис. 7А). В СА3 нейроны пирамидного слоя располагались более дисперсно, чем в СА1, и имели полигональную форму с четко визуализируемым ядром и одним ядрышком, обнаруживались единичные гиперхромные нейроны, сморщенные нейроны с гиперхромией, нейроны с очаговым хроматолизом и единичные участки выпадения нейронов (Рис. 8А).

В группе животных с СД без лечения в СА1 пирамидного слоя по сравнению с интактом у части животных обнаруживали участки выпадений нейронов, а также в концевых отделах пирамидного слоя СА1 нейроны с очаговым хроматолизом, гиперхромные и гиперхромные сморщенные нейроны, которые располагались группой (Рис. 7Б). В СА3 пирамидного слоя нейроны располагались более рыхло, чем в СА1 (Рис. 8Б). У всех животных встречались участки выпадения нейронов, очаговый хроматолиз. Для большинства животных обнаруживали нейроны с гиперхромией цитоплазмы и гиперхромные нейроны со сморщиванием перикарионов. Отмечалось достоверное увеличение

удельного количества гиперхромных нейронов на 10,8 % в СА1 ($p < 0,05$) и на 17,5 % в СА3 гиппокампа ($p < 0,05$), по сравнению с интактными животными (Табл. 1). При этом достоверных различий в изменении удельного количества гиперхромных сморщенных нейронов с СА1 и СА3 не наблюдалось ($p > 0,05$) (Табл. 1).

У старых крыс с СД при фармакологической коррекции ГАМК, ФПС и МФБА большинство нейронов пирамидного слоя характеризовалось нормохромной цитоплазмой. У некоторых животных встречались нейроны с гиперхроматозом цитоплазмы и гиперхромные сморщенные нейроны, которые в концевых отделах СА1 располагались группой, наблюдались участки выпадения нейроцитов (Рис. 7В–7Д; Рис. 8В–8Д).

При статистической обработке данных в СА1 зоне гиппокампа при применении ГАМК, ФПС и МФБА нами было обнаружено достоверное снижение удельного количества гиперхромных нейронов ($p < 0,05$) по сравнению с группой СД (Табл. 1). Применение МФБА продемонстрировало статистически значимые различия и в СА3, удельное количество гиперхромных нейронов снижалось на 17,5 % ($p < 0,05$) (Табл. 1).

Морфология соматосенсорной коры

При гистологическом исследовании первичной соматосенсорной коры интактных крыс (Рис. 9) были обнаружены единичные гиперхромные и гиперхромно-сморщенные нейроны во всех слоях. Однако у отдельных животных встречались локусы выраженного гиперхроматоза во 2-м, 3-м и 5-м слоях, где, наряду с неизменными нейронами, обнаруживали нейроны, перикарионы которых имели неправильную сморщенную, вытянутую или извитую форму, ядрышко не визуализировалось. Обнаруженные нами патологические изменения в коре интактных крыс, мы связывали с возрастом исследуемых крыс.

При экспериментальном моделировании СД у стареющих крыс (в возрасте 12–19 мес) были обнаружены наиболее выраженные признаки повреждения в нейронах 2-го, 3-го, 5-го слоев первичной соматосенсорной коры. При этом увеличение участков выпадения перикарионов нейронов, выявленное в 4-м, 5-м слоях первичной соматосенсорной коры, свидетельствовало о развитии атрофических изменений в коре ГМ крыс, что подтвердилось снижением когнитивных функций.

После лечения у стареющих крыс (в возрасте 12–19 мес) обнаружены наименее выраженные патологические изменения в нейронах 2-го, 3-го, 5-го слоев первичной соматосенсорной коры в группе коррекции МФБА, участков выпадения перикарионов нейронов, в первичной соматосенсорной коре у животных данной группы практически отсутствовали, что свидетельствовало о протективном влиянии композиции на структуру коры ГМ крыс.

При морфологическом исследовании

соматосенсорной коры ГМ у крыс с СД без лечения отмечалось значимо большее относительное количество гиперхромных сморщенных нейронов по сравнению с животными без СД (Рис. 10).

В группе фармакоррекции МФБА выявлено статистически значимое снижение удельного количества гиперхромно-сморщенных нейронов во внутреннем пирамидном, в наружном пирамидном и в наружном зернистом слое в сравнении с группой СД без лечения.

У крыс с СД, получавших ГАМК, и ФПС обнаружено достоверное снижение удельного количества гиперхромных нейронов в наружном зернистом слое в сравнении с СД без лечения.

ОБСУЖДЕНИЕ

В условиях длительной гипергликемии в качестве ключевого фактора, противодействующего окислительному стрессу, рассматривается Nrf2, который активирует экспрессию генов, ответственных за экспрессию ферментов антиоксидантной защиты [31]. Поэтому поиск путей активации системы Nrf2 считается потенциальной цитопротекторной стратегией профилактики и лечения заболеваний в основе патогенеза которых лежит окислительный стресс, включая неврологические патологии [32–34].

Система Nrf2 и система NF-κB находятся в антагонистических отношениях. Например, при дефиците Nrf2 наблюдается повышенная активность NF-κB, а активация Nrf2 оказывает противовоспалительное действие во многих моделях воспаления на грызунах. Показано, что Nrf2 подавляет экспрессию генов провоспалительных цитокинов и обладает способностью негативно влиять на NF-κB посредством индукции антиоксидантного ответа [35].

С целью повышения трансляционного потенциала настоящее исследование выполнено на старых животных с экспериментальным СД, у которых уже имело место выраженные функциональные и структурные нарушения в ГМ. Подавляющее большинство исследований, направленных на изучение антидиабетогенных эффектов и диабетических осложнений, выполняли на молодых животных в возрасте 4–6 мес, а длительность моделируемого диабета ограничивали 12–16 нед. При том, что развитие возрастных изменений значительно усугублялось длительной гипергликемией и сопряженным с ней воспалением, глюкозо- и липотоксичностью, окислительным и нитрозативным стрессом.

Исследование носило комплексный характер с оценкой патогенетических изменений на основе морфофункционального подхода. Оно показало, что у старых животных (19 мес) с длительной (7 мес) гипергликемией отмечались выраженные нарушения сенсорных и моторных функций, координации движений, а также выраженное снижение кратковременной, долговременной и пространственной памяти. Эти когнитивные

нарушения в клинике имеют большое значение, т.к. снижают качество жизни больного, а при глубоких нарушениях становятся бременем для семьи и общества и пока смягчение когнитивных нарушений у больных СД остаётся нерешённой задачей, даже при нормализации уровня глюкозы в крови.

Функциональные расстройства в своей основе согласуются с отмеченными на следующем этапе структурными нарушениями. У старых крыс с СД были обнаружены наиболее выраженные признаки повреждения в пирамидных нейронах в СА1 и СА3 зонах гиппокампа, участки выпадений нейронов, значимое увеличение удельного количества нейронов с признаками обратимых изменений (нейроны с гиперхромией цитоплазмы перикарионов без сморщивания), увеличение числа сморщенных гиперхромных нейронов. Это согласуется с данными о прогрессирующих атрофических изменениях, ультраструктурных повреждениях нейронов и синапсов гиппокампа, которые сопровождаются усилением окислительного стресса, нейровоспаления, апоптоза нейронов, а также когнитивным дефицитом, нарушениями обучения и памяти при СД [21, 36, 37].

Использование нами для фармакологической коррекции производных ГАМК, ФПС и особенно МФБА, способствовало достоверному снижению признаков обратимых нарушений в пирамидных нейронах СА1 и СА3 зонах гиппокампа, снижению удельного количества гиперхромных нейронов по сравнению с группой СД без лечения. В то же время используемые препараты не оказали значимого влияния на уровень нейронов с признаками необратимых повреждений (гиперхромные сморщенные нейроны) в пирамидном слое в СА1 и СА3 зонах гиппокампа.

Комплексный анализ структурных изменений в первичной сенсомоторной коре ГМ и гиппокампе старых крыс при экспериментальном СД показал преобладание признаков необратимых и обратимых повреждений нейронов. Эти изменения были более выражены в наружном зернистом, в наружном пирамидном и внутреннем пирамидном слоях. Повреждение нейронов пирамидного слоя СА1 и СА3 зон гиппокампа сопровождалось появлением участков выпадения нейронов и снижением абсолютной и относительных площадей перикарионов нейронов в первичной сенсомоторной коре ГМ, что свидетельствовало о прогрессировании атрофических процессов.

Нарушения когнитивных функций (исследовательской активности, кратковременной и долговременной пространственной памяти) у крыс с СД по сравнению с интактными животными того же возраста (19 мес) сопровождалось развитием морфологических признаков повреждения нейронов и атрофических изменений в первичной сенсомоторной коре головного мозга и гиппокампе. Применение в качестве фармакологической коррекции производных ГАМК в течение 1 мес

способствовало снижению выраженности сенсорно-моторных и когнитивных нарушений, снижению морфологических признаков повреждения нейронов и атрофических изменений, в основе чего может лежать нормализация уровня глюкозы, улучшение вазодилатирующей и антитромботической функции эндотелия, что рассматривается в качестве ведущих патогенетических факторов при развитии диабетической энцефалопатии и ангиопатии [21].

Повреждению нейронов и глии способствует сочетанное влияние повышенного окислительного стресса, нейровоспаления, нейротрансмиссивных аномалий, соответственно, применения препаратов, нормализующих вышеупомянутые процессы, способствует нейропротекции, снижая нейродегенеративные изменения в гиппокампе и коре ГМ при прогрессировании диабетической энцефалопатии [38]. Поэтому мы обратили пристальное внимание на ГАМК, которая стимулирует выработку БК. В данном исследовании отмечено, что уровень БК в ГМ повышался под влиянием как ГАМК, так и её производных, которые применялись в значительно меньших дозах. При этом БК рассматривался как обоснованная терапевтическая мишень благодаря способности повышать активность различных систем защиты организма при воздействии ряда повреждающих факторов: окислительного и нитрозативного стресса, воспаления, митохондриальной дисфункции, апоптоза и гибели клеток, а также на предупреждение процессов раннего старения [12, 39].

Особого внимания заслуживает тот факт, что обнаруженные множественные гетерогенные признаки повреждений в коре ГМ и гиппокампе возникали при сочетании реализации возраст-зависимых факторов в условиях гипергликемии при СД. Соответственно, применение препаратов, оказывающих мультимодальные нейро-, геропротективные, гипогликемические эффекты, становится предпочтительной стратегией терапии. Так, например, показано, что старение и СД сопровождаются снижением выработки БК, экспрессирующегося в почках, головном мозге, бета-клетках поджелудочной железы и других тканях [24, 40, 41], а использование ГАМК приводит к панкреопротективным эффектам, увеличивает уровень циркулирующего БК. ГАМК и БК подавляют активацию белка NF-κB, способствующего стимуляции воспалительных реакций, запускающих апоптоз бета-клеток [12, 39], что позволяет рассматривать производные ГАМК в качестве перспективной группы для изучения их эффектов при лечении диабетической энцефалопатии у пожилых.

Что лежит в основе нейропротекторного действия ГАМК и её производных (МФБА и ФПС)? Ответ на этот вопрос имеет принципиальное значение. Они оказывали однонаправленное действие, улучшая сенсорно-моторную, когнитивную, а также эндотелиальную функцию у крыс с СД. Это может свидетельствовать о сходном механизме

действия. Учитывая аналогию действия ГАМК и БК на β-клетки поджелудочной железы, было показано, что цитопротективное действие ГАМК связано с повышением продукции и уровня БК [12]. У животных с нокаутом по белку БК панкреопротективное действие ГАМК значительно уменьшилось. Поэтому и мы в нашей работе после 30-дневного введения ГАМК определяли содержание БК в ГМ. У животных с СД, не получавших исследуемые вещества, содержание БК в мозге, было значительно ниже, чем у интактных животных. У животных, получавших производные ГАМК, уровень БК был статистически значимо выше, чем у животных контрольной группы. Это действие исследуемых веществ заслуживает особого внимания, потому что его содержание в ГМ, жидких средах, сыворотке крови, моче и др. может служить маркером диабетических осложнений, старения, прогноза деменции и сердечно-сосудистого риска, а также для оценки тяжести течения различных заболеваний, при которых его уровень снижается [42]. Дефицит БК играет важную роль в патогенезе когнитивных нарушений [26], сердечно-сосудистых заболеваний [43].

В настоящее время в литературе представлен широкий спектр биологической активности антивозрастного БК [12, 43, 44]. Установлено, что при многих патологиях (сердечно-сосудистые заболевания, СД, патология почек, старение) его уровень снижается. Поэтому поиск и разработка веществ, стимулирующих продукцию БК, является важной задачей. Применительно к трактовке наших результатов следует отметить его влияние на экспрессию ядерных факторов Nrf2 и NF-κB, которые играют ключевую роль в развитии осложнений СД.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У старых животных (в возрасте 19 мес) с длительной (7 мес) гипергликемией были обнаружены нарушения сенсорно-моторных функций, координации движений, выраженное снижение кратковременной и долговременной памяти, а также значительное ухудшение вазодилатирующей функции эндотелия мозговых сосудов. Данные функциональные нарушения сопровождались развитием морфологических признаков повреждения нейронов и атрофических изменений в первичной сенсомоторной коре ГМ и гиппокампе. По сравнению с интактными животными, у животных с СД без лечения в гомогенатах ГМ были отмечены значимо низкие уровни БК, BDNF и транскрипционного фактора Nrf2, а также более высокие уровни транскрипционного фактора NF-κB, MDA и ФНО-α.

Курсовое введение ГАМК, её линейного и циклического производного (МФБА и ФПС) способствовало повышению продукции ГПП-1 и нормализации углеводного обмена, снижению выраженности когнитивных и сенсорно-моторных нарушений, улучшению вазодилатирующей и антитромботической функции эндотелия, что

сопровождалось уменьшением морфологических признаков повреждения нейронов.

Нейропротекторные свойства ГАМК и её производных при диабетической энцефалопатии у старых животных можно объяснить повышением в тканях ГМ уровня антивозрастного БК, мозгового нейротрофического фактора (BDNF), уровня

транскрипционного фактора Nrf2, который регулирует активность ферментов антиоксидантной защиты, а также снижением уровня ядерного транскрипционного фактора NfκB и ФНО-α, отвечающих за формирование и поддержание воспалительных процессов, лежащих в основе развития осложнений СД.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта РНФ от 19.04.2021 г. № 21-15-00192.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

И.Н. Тюренков – идея и планирование исследования, написание черновика статьи, утверждение финальной версии рукописи; Д.А. Бакулин – моделирование и контроль патологии, оформление финальной версии рукописи; А.В. Смирнов, А.И. Бисинбекова, Г.Л. Снигур, Ю.И. Великородная, М.Р. Экова – проведение гистохимического окрашивания и оценка морфологических изменений в гиппокампе и сенсомоторной коре головного мозга, анализ и описание результатов; Е.И. Морковин – оценка психоневрологического дефицита; Д.В. Верхоляк – оценка мозгового кровотока и функционального состояния эндотелия сосудов головного мозга; О.С. Васильева – разработка исследуемых соединений. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Magliano D.J., Boyko E.J. IDF Diabetes Atlas 10th edition scientific committee. IDF DIABETES ATLAS [Internet]. 10th ed. Brussels: International Diabetes Federation; 2021. [cited 2023 August 3]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK581934>
- Сваровская А.В., Гарганеева А.А. Сахарный диабет 2 типа и сердечная недостаточность — современный взгляд на механизмы развития. Сахарный диабет. — 2022. — Т. 25, № 3. — С. 267–274. DOI: 10.14341/DM12648
- Бондарь И.А., Демин А.А., Гражданкина Д.В. Сахарный диабет 2 типа: взаимосвязь исходных клинико-лабораторных и эхокардиографических показателей с отдалёнными неблагоприятными сердечно-сосудистыми событиями. Сахарный диабет. — 2022. — Т. 25, № 2. — С. 136–144. DOI: 10.14341/DM12823
- van Duinkerken E., Ryan C.M. Diabetes mellitus in the young and the old: Effects on cognitive functioning across the life span // *Neurobiol Dis.* — 2020. — Vol. 134. — Art. ID: 104608. DOI: 10.1016/j.nbd.2019.104608
- Dao L., Choi S., Freeby M. Type 2 diabetes mellitus and cognitive function: understanding the connections // *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* — 2023. — Vol. 30, No. 1. — P. 7–13. DOI: 10.1097/MED.0000000000000783
- Sebastian M.J., Khan S.K., Pappachan J.M., Jeeyavudeen M.S. Diabetes and cognitive function: An evidence-based current perspective // *World J Diabetes.* — 2023. — Vol. 14, No. 2. — P. 92–109. DOI: 10.4239/wjd.v14.i2.92
- Xue M., Xu W., Ou Y.N., Cao X.P., Tan M.S., Tan L., Yu J.T. Diabetes mellitus and risks of cognitive impairment and dementia: A systematic review and meta-analysis of 144 prospective studies // *Ageing Res Rev.* — 2019. — Vol. 55. — Art. ID: 100944. DOI: 10.1016/j.arr.2019.100944
- Barbiellini Amidei C., Fayosse A., Dumurgier J., Machado-Fraga M.D., Tabak A.G., van Sloten T., Kivimäki M., Dugravot A., Sabia S., Singh-Manoux A. Association Between Age at Diabetes Onset and Subsequent Risk of Dementia // *JAMA.* — 2021. — Vol. 325, No. 16. — P. 1640–1649. DOI: 10.1001/jama.2021.4001
- Selman A., Burns S., Reddy A.P., Culbertson J., Reddy P.H. The Role of Obesity and Diabetes in Dementia // *Int J Mol Sci.* — 2022. — Vol. 23, No. 16. — Art. ID: 9267. DOI: 10.3390/ijms23169267
- Jiménez-Balado J., Eich T.S. GABAergic dysfunction, neural network hyperactivity and memory impairments in human aging and Alzheimer's disease // *Semin Cell Dev Biol.* — 2021. — Vol. 116. — P. 146–159. DOI: 10.1016/j.semcdb.2021.01.005
- Тюренков И.Н., Файбисович Т.И., Дубровина М.А., Бакулин Д.А., Куркин Д.В. ГАМК-ергическая система в регуляции функционирования бета-клеток поджелудочной железы в условиях нормы и при сахарном диабете // *Успехи физиологических наук.* — 2023. — Т. 54, № 2. — С. 86–104. DOI: 10.31857/s030117982302008x
- Prud'homme G.J., Glinka Y., Kurt M., Liu W., Wang Q. The anti-aging protein Klotho is induced by GABA therapy and exerts protective and stimulatory effects on pancreatic beta cells // *Biochem Biophys Res Commun.* — 2017. — Vol. 493, No. 4. — P. 1542–1547. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.10.029
- Hagan D.W., Ferreira S.M., Santos G.J., Phelps E.A. The role of GABA in islet function // *Front Endocrinol (Lausanne).* — 2022. — Vol. 13. — Art. ID: 972115. DOI: 10.3389/fendo.2022.972115
- Soltani N., Qiu H., Aleksic M., Glinka Y., Zhao F., Liu R., Li Y., Zhang N., Chakrabarti R., Ng T., Jin T., Zhang H., Lu W.Y., Feng Z.P., Prud'homme G.J., Wang Q. GABA exerts protective and regenerative effects on islet beta cells and reverses diabetes // *Proc Natl Acad Sci*

- USA. – 2011. – Vol. 108, No. 28. – P. 11692–11697. DOI: 10.1073/pnas.1102715108
15. Кустова М.В., Перфилова В.Н., Завадская В.Е., Варламова С.В., Кучерявенко А.С., Музыко Е.А., Прокофьев И.И., Тюренок И.Н. Влияние соединений РГПУ-238 и РГПУ-260 на вазодилатирующую и антитромботическую функции эндотелия крыс после хронической алкогольной интоксикации. Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2023. – Т. 18, № 1. – С. 54–58. DOI: 10.14300/mnnc.2023.18013
16. Тюренок И.Н., Бакулин Д.А., Борисов А.В., Абросимова Е.Е., Верхоляк Д.В., Васильева О.С. Эндотелиопротективное действие ГАМК и нового производного ГАМК - композиции МФБА у животных после длительной диабетической гипергликемии. Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2023. – Т. 86, № 7. – С. 13–18. DOI: 10.30906/0869-2092-2023-86-7-13-18
17. Бородин Л.Е., Багметова В.В., Тюренок И.Н. Сравнительное изучение нейропротекторного и противосудорожного действия циклических аналогов ГАМК пирасетама, фенотропила, фепирона и его композиций с органическими кислотами. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2012. – № 8. – С. 14–20.
18. Тюренок И.Н., Смирнов А.В., Бакулин Д.А., Великородная Ю.И., Быхалов Л.С. Патоморфоз экспериментальной диабетической кардиомиопатии при фармакологической коррекции сукцикардом. Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2023. – Т. 20, № 1. – С. 53–57.
19. Hladovec J. Circulating endothelial cells as a sign of vessel wall lesions. *Physiol Bohemoslov.* – 1978. – Vol. 27, No. 2. – P. 140–144.
20. Peng X., Wang X., Fan M., Zhao J., Lin L., Liu J. Plasma levels of von Willebrand factor in type 2 diabetes patients with and without cardiovascular diseases: A meta-analysis // *Diabetes Metab Res Rev.* – 2020. – Vol. 36, No. 1. – Art. ID: e3193. DOI: 10.1002/dmrr.3193
21. Hamed S.A. Brain injury with diabetes mellitus: evidence, mechanisms and treatment implications // *Expert Rev Clin Pharmacol.* – 2017. – Vol. 10, No. 4. – P. 409–428. DOI: 10.1080/17512433.2017.1293521
22. van de Vorst I.E., Koek H.L., de Vries R., Bots M.L., Reitsma J.B., Vaartjes I. Effect of Vascular Risk Factors and Diseases on Mortality in Individuals with Dementia: A Systematic Review and Meta-Analysis // *J Am Geriatr Soc.* – 2016. – Vol. 64, No. 1. – P. 37–46. DOI: 10.1111/jgs.13835
23. Anstey K.J., Ee N., Eramudugolla R., Jagger C., Peters R. A Systematic Review of Meta-Analyses that Evaluate Risk Factors for Dementia to Evaluate the Quantity, Quality, and Global Representativeness of Evidence // *J Alzheimers Dis.* – 2019. – Vol. 70, No. s1. – P. S165–S186. DOI: 10.3233/JAD-190181
24. Prud'homme G.J., Kurt M., Wang Q. Pathobiology of the Klotho Antiaging Protein and Therapeutic Considerations // *Front Aging.* – 2022. – Vol. 3. – Art. ID: 931331. DOI: 10.3389/fragi.2022.931331
25. Abraham C.R., Li A. Aging-suppressor Klotho: Prospects in diagnostics and therapeutics // *Ageing Res Rev.* – 2022. – Vol. 82. – Art. ID: 101766. DOI: 10.1016/j.arr.2022.101766
26. Hanson K., Fisher K., Hooper N.M. Exploiting the neuroprotective effects of α -klotho to tackle ageing and neurodegeneration-related cognitive dysfunction // *Neuronal Signal.* – 2021. – Vol. 5, No. 2. – Art. ID: NS20200101. DOI: 10.1042/NS20200101
27. Kim O.Y., Song J. The importance of BDNF and RAGE in diabetes-induced dementia // *Pharmacol Res.* – 2020. – Vol. 160. – Art. ID: 105083. DOI: 10.1016/j.phrs.2020.105083
28. Moosaie F., Mohammadi S., Saghaizadeh A., Dehghani Firouzabadi F., Rezaei N. Brain-derived neurotrophic factor in diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis // *PLoS One.* – 2023. – Vol. 18, No. 2. – Art. ID: e0268816. DOI: 10.1371/journal.pone.0268816
29. Magariños A.M., McEwen B.S. Experimental diabetes in rats causes hippocampal dendritic and synaptic reorganization and increased glucocorticoid reactivity to stress // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2000. – Vol. 97, No. 20. – P. 11056–11061. DOI: 10.1073/pnas.97.20.11056
30. Wrighten S.A., Piroli G.G., Grillo C.A., Reagan L.P. A look inside the diabetic brain: Contributors to diabetes-induced brain aging // *Biochim Biophys Acta.* 2009. – Vol. 1792, No. 5. – P. 444–453. DOI: 10.1016/j.bbadis.2008.10.013
31. Kiani B., Yarahmadi S., Nabi-Afjadi M., Eskandari H., Hasani M., Abbasian Z., Bahreini E. A Comprehensive Review on the Metabolic Cooperation Role of Nuclear Factor E2-Related Factor 2 and Fibroblast Growth Factor 21 against Homeostasis Changes in Diabetes // *Clinical Diabetology.* – 2022. – Vol. 11, No. 6. P. – 409–419. DOI: 10.5603/dk.a2022.0051
32. Chun K.S., Raut P.K., Kim D.H., Surh Y.J. Role of chemopreventive phytochemicals in NRF2-mediated redox homeostasis in humans // *Free Radic Biol Med.* – 2021. – Vol. 172. – P. 699–715. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.06.031
33. Lee J., Jang J., Park S.M., Yang S.R. An Update on the Role of Nrf2 in Respiratory Disease: Molecular Mechanisms and Therapeutic Approaches // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22, No. 16. – Art. ID: 8406. DOI: 10.3390/ijms22168406
34. Wang Y.H., Gao X., Tang Y.R., Yu Y., Sun M.J., Chen F.Q., Li Y. The Role of NF- κ B/NLRP3 Inflammation Signaling Pathway in Attenuating Pyroptosis by Melatonin Upon Spinal Nerve Ligation Models // *Neurochem Res.* – 2022. – Vol. 47, No. 2. – P. 335–346. DOI: 10.1007/s11064-021-03450-7
35. van der Horst D., Carter-Timofte M.E., van Grevenynghe J., Laguet N., Dinkova-Kostova A.T., Olganier D. Regulation of innate immunity by Nrf2 // *Curr Opin Immunol.* – 2022. – Vol. 78. – Art. ID: 102247. DOI: 10.1016/j.coi.2022.102247
36. Milne N.T., Bucks R.S., Davis W.A., Davis T.M.E., Pierson R., Starkstein S.E., Bruce D.G. Hippocampal atrophy, asymmetry, and cognition in type 2 diabetes mellitus // *Brain Behav.* – 2017. – Vol. 8, No. 1. – Art. ID: e00741. DOI: 10.1002/brb3.741
37. Kirshenbaum G.S., Chang C.Y., Bompalaki M., Bradford V.R., Bell J., Kosmidis S., Shansky R.M., Orlandi J., Savage L.M., Harris A.Z., David Leonardo E., Dranovsky A. Adult-born neurons maintain hippocampal cholinergic inputs and support working memory during aging // *Mol Psychiatry.* – 2023. DOI: 10.1038/s41380-023-02167-z
38. Zhou X., Zhu Q., Han X., Chen R., Liu Y., Fan H., Yin X. Quantitative-profiling of neurotransmitter abnormalities in the disease progression of experimental diabetic encephalopathy rat // *Can J Physiol Pharmacol.* – 2015. – Vol. 93, No. 11. – P. 1007–10013. DOI: 10.1139/cjpp-2015-0118

39. Li X., Li Z., Li B., Zhu X., Lai X. Klotho improves diabetic cardiomyopathy by suppressing the NLRP3 inflammasome pathway // *Life Sci.* – 2019. – Vol. 234. – Art. ID: 116773. DOI: 10.1016/j.lfs.2019.116773
40. Landry T., Shookster D., Huang H. Circulating α -klotho regulates metabolism via distinct central and peripheral mechanisms // *Metabolism.* – 2021. – Vol. 121. – Art. ID: 154819. DOI: 10.1016/j.metabol.2021.154819
41. Youssef O.M., Morsy A.I., El-Shahat M.A., Shams A.M., Abd-Elhady S.L. The neuroprotective effect of simvastatin on the cerebellum of experimentally-induced diabetic rats through klotho upregulation: An immunohistochemical study // *J Chem Neuroanat.* – 2020. – Vol. 108. – Art. ID: 101803. DOI: 10.1016/j.jchemneu.2020.101803
42. Yi S.S. Disease predictability review using common biomarkers appearing in diabetic nephropathy and neurodegeneration of experimental animals // *Lab Anim Res.* – 2022. – Vol. 38, No. 1. – Art. ID: 3. DOI: 10.1186/s42826-022-00113-8
43. Tyurenkov I.N., Perfilova V.N., Nesterova A.A., Glinka Y. Klotho Protein and Cardio-Vascular System // *Biochemistry (Mosc).* – 2021. – Vol. 86, No. 2. – P. 132–145. DOI: 10.1134/S0006297921020024
44. Нестерова А.А., Глинка Е.Ю., Тюреньков И.Н., Перфилова В.Н. Белок Клото – универсальный регулятор физиологических процессов в организме // *Успехи физиологических наук.* – 2020. – Т. 51, № 2. – С. 88–104. DOI: 10.31857/S0301179820020083

АВТОРЫ

Иван Николаевич Тюреньков – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией фармакологии сердечно-сосудистых средств НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; член-корреспондент РАН. ORCID ID: 0000-0001-7574-3923. E-mail: fibfuv@mail.ru

Бакулин Дмитрий Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-4694-3066. E-mail: mbfdoc@gmail.com

Смирнов Алексей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-5351-6105. E-mail: alexeysmirnov.volggmu@gmail.com

Экова Мария Рафаэлевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, сотрудник лаборатории морфофармакологии ГБУ ВМНЦ. ORCID ID: 0000-0001-8655-1441. E-mail: maria.ekova@mail.ru

Бисинбекова Айслу Ильнуровна – ординатор по специальности «Патологическая анатомия» ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; младший научный сотрудник ГБУ ВМНЦ. E-mail: aandm08@mail.ru

Григорий Леонидович Снигур – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой биологии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; директор ГБУ ВМНЦ. ORCID ID: 0000-0002-8612-6186. E-mail: sgrigoryl@mail.ru

Великородная Юлия Ивановна – заочный аспирант кафедры фармакологии и фармации ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; научный сотрудник лаборатории патоморфологии ГБУ ВМНЦ. ORCID ID: 0000-0003-2976-6352. E-mail: alta-u@mail.ru

Морковин Евгений Игоревич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры фундаментальной медицины и биологии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; заведующий лабораторией нейрорепсихофармакологии НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7119-3546. Email: e.i.morkovin@gmail.com

Верхоляк Дмитрий Викторович – ассистент кафедры химии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-6783-1867. E-mail: verholiakdima@mail.ru

Васильева Ольга Сергеевна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории нитросоединений ФГБОУ ВО РГПУ им. А.И. Герцена. ORCID ID: 0000-0002-0309-1580. E-mail: ovasja@gmail.com

УДК 000.00:111.11 615.065



Модель прогнозирования риска развития лекарственного поражения печени на фоне терапии ремдесивиром: обсервационное проспективное открытое контролируемое исследование

Ю.В. Шевчук^{1,2}, А.В. Крюков^{1,2}, И.И. Темирбулатов², И.В. Сычев³, К.Б. Мирзаев², Н.П. Денисенко², Ш.П. Абдуллаев², С.Н. Тучкова², В.И. Вечорко^{1,2}, О.В. Аверков¹, Д.А. Сычев²

¹ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница № 15 имени О.М. Филатова Департамента здравоохранения города Москвы», 111539, Россия, г. Москва ул. Вешняковская, д. 23

² Федеральное государственное бюджетное общеобразовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 123242, Россия, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», 430005, Россия г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68

E-mail: ju-viktorovna@yandex.ru

Получена 20.02.2023

После рецензирования 25.07.2023

Принята к печати 08.08.2023

Ремдесивир является препаратом, широко используемым для этиотропной терапии COVID-19. Согласно данным ряда исследований, частота развития нежелательных реакций при терапии ремдесивиром достигает 66%, при этом наиболее частой из них является повышение показателей печеночных проб.

Цель. Изучение влияния клинико-демографических и фармакогенетических факторов на развитие лекарственного поражения печени при терапии ремдесивиром у пациентов с COVID-19.

Материалы и методы. В исследование было включено 100 госпитализированных пациентов, получавших лечение препаратом ремдесивир. Пациенты были разделены на две группы: группа 1 ($n=32$), у которой на фоне терапии ремдесивиром развилось повышение уровня печеночных трансаминаз; группа 2 (контроль, $n=68$), у которых не было выявлено развития упомянутой нежелательной реакции. Пациентам обеих групп было проведено фармакогенетическое исследование, а также был проведен ретроспективный анализ историй болезни. На основании полученных данных изучена ассоциация клинических, лабораторных, фармакологических и фармакогенетических показателей с развитием лекарственного поражения печени при терапии ремдесивиром.

Результаты. В группе пациентов с развитием лекарственного поражения печени достоверно чаще, чем в группе контроля, встречались лица с высоким индексом массы тела ($30,7 \pm 4,2$ кг/м² в группе 1 против $27,3 \pm 5,5$ кг/м² в группе 2, $p=0,003$), имеющие сахарный диабет в анамнезе (отношение шансов (ОШ)=2,647, 95% доверительный интервал (ДИ)=1,092–6,414, $\chi^2=4,785$, $p=0,029$), более высокий уровень ферритина в крови ($724,03 \pm 432,27$ и $553,19 \pm 358,48$ мг/моль соответственно, $p=0,040$), получавшие терапию ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента (ОШ=5,440, 95% ДИ=2,160–13,699, $\chi^2=14,027$, $p=0,000$), статинами (ОШ=3,148, 95% ДИ=1,307–7,581, $\chi^2=6,795$, $p=0,009$), а также являющиеся гетерозиготой по полиморфному маркеру rs776746 гена CYP3A5 (ОШ=3,961, 95% ДИ=1,343–11,686, $\chi^2=6,772$, $p=0,009$).

Заключение. Высокий индекс массы тела, сахарный диабет в анамнезе, высокий уровень ферритина в крови, сопутствующая терапия ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента и статинами, а также носительство генотипа AG по полиморфному маркеру rs776746 гена CYP3A5 повышают вероятность развития лекарственного поражения печени при терапии ремдесивиром. В связи с этим, необходимо учитывать эти факторы при назначении терапии ремдесивиром, проводить более тщательный мониторинг клинических и лабораторных показателей поражения печени и разрабатывать персонализированные подходы к лечению пациентов с COVID-19.

Для цитирования: Ю.В. Шевчук, А.В. Крюков, И.И. Темирбулатов, И.В. Сычев, К.Б. Мирзаев, Н.П. Денисенко, Ш.П. Абдуллаев, С.Н. Тучкова, В.И. Вечорко, О.В. Аверков, Д.А. Сычев. Модель прогнозирования риска развития лекарственного поражения печени на фоне терапии ремдесивиром: обсервационное проспективное открытое контролируемое исследование. *Фармация и фармакология*. 2023;11(3): 228–239. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-3-228-239

© Ю.В. Шевчук, А.В. Крюков, И.И. Темирбулатов, И.В. Сычев, К.Б. Мирзаев, Н.П. Денисенко, Ш.П. Абдуллаев, С.Н. Тучкова, В.И. Вечорко, О.В. Аверков, Д.А. Сычев, 2023

For citation: Yu.V. Shevchuk, A.V. Kryukov, I.I. Temirbulatov, I.V. Sychev, K.B. Mirzaev, N.P. Denisenko, Sh.P. Abdullaev, S.N. Tuchkova, V.I. Vechorko, O.V. Averkova, D.A. Sychev. Model for predicting risk of developing drug-induced liver injury during remdesivir therapy: observational prospective open case-control study. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(3):228–239. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-3-228-239

Ключевые слова: COVID-19; ремдесивир; гепатотоксичность; нежелательные реакции; предикторы нежелательных реакций; фармакогенетическое исследование; клиническое исследование

Список сокращений: CES1 – карбоксиэстераза 1; АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспартатаминотрансфераза; АПФ – ангиотензинпревращающий фермент; иАПФ – ингибиторы АПФ; ИЛ-6 – интерлейкин-6; ИМТ – индекс массы тела; ЛПП – лекарственное поражение печени; НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты; НР – нежелательная реакция; МКБ – Международная классификация болезней; ПЦР – полимеразная цепная реакция; СКФ – скорость клубочковой фильтрации.

Model for predicting risk of developing drug-induced liver injury during remdesivir therapy: observational prospective open case-control study

Yu.V. Shevchuk^{1,2}, A.V. Kryukov^{1,2}, I.I. Temirbulatov², I.V. Sychev³, K.B. Mirzaev², N.P. Denisenko², Sh.P. Abdullaev², S.N. Tchkova², V.I. Vechorko^{1,2}, O.V. Averkov¹, D.A. Sychev²

¹ Municipal Clinical Hospital No. 15 named after O.M. Filatov, 23, Veshnyakovskaya Str., Moscow, Russia, 111539

² Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Bld. 1, 2/1, Barrikadnaya Str., Moscow, Russia, 125993

³ National Research Ogarev Mordovia State University, 68, Bolshevistskaya Str., Saransk, Russia, 430005

E-mail: ju-viktorovna@yandex.ru

Received 20 Feb 2023

After peer review 25 July 2023

Accepted 08 Aug 2023

Remdesivir is a drug widely used for the etiotropic treatment of COVID-19. According to a number of studies, the incidence of adverse reactions during remdesivir therapy reaches 66%, with the most common is an increase in liver function tests.

The aim of the work was to study the influence of clinical, demographic and pharmacogenetic factors on the development of drug-induced liver damage during remdesivir therapy in COVID-19 patients.

Materials and methods. The study comprised 100 hospitalized patients treated with remdesivir. The patients were divided into two groups: group 1 ($n=32$) – remdesivir therapy, developed an increase in the level of liver transaminases; group 2 (control, $n=68$) – did not develop this adverse reaction. The patients in both groups underwent a pharmacogenetic study, and a retrospective analysis of medical records was performed. Based on the data obtained, the association of clinical, laboratory, pharmacological and pharmacogenetic parameters with the development of drug-induced liver damage during remdesivir therapy was studied.

Results. In the group of patients with the development of drug-induced liver damage, people with a high body mass index were significantly more likely than in the control group (30.7 ± 4.2 kg/m² in group 1 vs. 27.3 ± 5.5 kg/m² in group 2, $p=0.003$), with a history of diabetes mellitus (odds ratio (OR)=2.647, 95% confidence interval (CI)=1.092–6.414, $\chi^2=4.785$, $p=0.029$), with higher levels of ferritin in the blood (724.03 ± 432.27 and 553.19 ± 358.48 mg/mol, respectively, $p=0.040$), receiving therapy with angiotensin-converting enzyme inhibitors (OR=5.440, 95% CI=2.160–13.699, $\chi^2=14.027$, $p=0.000$), statins (OR=3.148, 95% CI=1.307–7.581, $\chi^2=6.795$, $p=0.009$), and also being heterozygous for the polymorphic marker *rs776746* of the *CYP3A5* gene (OR=3.961, 95% CI=1.343–11.686, $\chi^2=6.772$, $p=0.009$).

Conclusion. A high body mass index, a history of diabetes mellitus, high levels of ferritin in the blood, concomitant therapy with angiotensin-converting enzyme inhibitors and statins, as well as a carriage of the AG genotype for the polymorphic marker *rs776746* of the *CYP3A5* gene increase the likelihood of developing drug-induced liver damage during remdesivir therapy. In this regard, it is necessary to consider these factors when prescribing remdesivir therapy, conduct a more careful monitoring of clinical and laboratory indicators of liver damage, and develop personalized approaches to the treatment of COVID-19 patients.

Keywords: COVID-19; remdesivir; hepatotoxicity; adverse reactions; predictors of adverse reactions; pharmacogenetic study; clinical trial

Abbreviations: CES1 – carboxyl esterase 1; ALT – alanine aminotransferase; AST – aspartate aminotransferase; ACEI – angiotensin-converting-enzyme; angiotensin-converting-enzyme inhibitors – ACE inhibitors; IL-6 – interleukin-6; BMI – body mass index; DILI – drug-induced liver injury; NSAIDs – non-steroidal anti-inflammatory drugs; ICD – International Classification of Diseases; AR – adverse reaction; PCR – polymerase chain reaction; GFR – glomerular filtration rate.

ВВЕДЕНИЕ

В условиях пандемии COVID-19 возникла необходимость поиска более эффективных противовирусных препаратов. Ремдесивир –

противовирусный препарат, одобренный для лечения легкой и средней степени тяжести коронавирусной инфекции. Ремдесивир стал широко применяться в клинической практике, при этом

данные о его безопасности, фармакокинетических свойствах и лекарственном взаимодействии при лечении COVID-19 немногочисленны.

Имеются исследования, посвященные развитию нежелательных реакций (НР) при терапии ремдесивиром. Так, в ретроспективном обсервационном исследовании, проведенном с использованием данных Системы сообщений о неблагоприятных событиях FDA (FAERS), были проанализированы сообщения о НР при использовании ремдесивира за период с 2019 по 2021 год. В результате было определено, что одной из наиболее часто встречающихся НР оказалось повышение показателей печеночных проб, частота развития которых составила 14,28% [1]. В другом ретроспективном исследовании, проведенном с сентября 2020 по февраль 2021 года, также было выявлено, что наиболее часто встречающейся НР было повышение показателей печеночных проб, частота развития которых составила 12,9% [2].

Широкая распространенность лекарственного поражения печени (ЛПП) при терапии ремдесивиром указывает на необходимость в дальнейшем проводить изучение его безопасности, а также разрабатывать методы персонализированного подхода при его назначении пациентам.

Ремдесивир является пролекарством. Имеются данные, что его метаболизм на 80% происходит под действием карбоксилэстеразы 1 (CES1), являющейся его основным метаболическим ферментом, а также на 10% катепсином А и на 10% CYP3A [3, 4]. В связи с этим полиморфизм генов, кодирующих данные ферменты, может влиять на фармакокинетику самого ремдесивира.

На долю цитохрома P450 семейства 3 подсемейства А (CYP3A) приходится около 30% от общего содержания ферментов CYP450 в печени человека (ферменты CYP3A участвуют в метаболизме примерно 50% лекарственных препаратов) [5, 6]. По данным ресурса PharmGKB [7], некоторые препараты метаболизируются с участием CES1. Эти два фактора указывают на то, что при терапии ремдесивиром необходимо учитывать как генетические особенности пациентов, так и сопутствующую лекарственную терапию.

ЦЕЛЬ. Изучить влияние клинικο-демографических и фармакогенетических факторов на развитие лекарственного поражения печени при терапии ремдесивиром у пациентов с COVID-19.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Авторами выполнено проспективное обсервационное открытое исследование типа «случай-контроль». В исследование были включены мужчины и женщины ($n=100$) в возрасте от 18 лет и старше, госпитализированные с подтвержденной новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) (U07.1; U07.2 по МКБ), соответствующие критериям

включения и не соответствующие критериям невключения.

Исследование проводили на базе Городской клинической больницы № 15 им. О.М. Филатова Департамента здравоохранения г. Москвы (Москва, Россия).

Критерии включения в исследование: установленный диагноз новой коронавирусной инфекции (COVID-19) (U07.1; U07.2 по МКБ); подписанное добровольное информированное согласие на участие в исследовании; длительность госпитализации >48 ч; использование ремдесивира в качестве этиотропной терапии.

Критерии невключения: скорость клубочковой фильтрации (СКФ) меньше 30 мл/мин/1,73 м²; беременность; период грудного вскармливания; повышение уровня аланинаминотрансферазы (АЛТ) выше 5 верхних границ нормы; тяжёлая печёночная недостаточность (класс С по Чайлд-Пью).

Этическая экспертиза

Исследование соответствовало требованиям Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации и было одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (Протокол № 15 от 16.10.21). От всех пациентов или их законных представителей было получено добровольное информированное согласие на участие в данном исследовании.

Продолжительность исследования

Исследование проводили с ноября 2021 по февраль 2022 года.

В исследование было включено 100 госпитализированных пациентов. Возраст всех пациентов составил от 44 до 96 лет (средний возраст – 73,0±12,5 года). Из них 31 (31%) мужчина, средний возраст которых составил 72,91±12,62 года и 69 (69%) женщин, средний возраст которых составил 73,0±12,5 года.

Методология исследования

Ремдесивир использовали в стандартной дозе: 200 мг в/в в первые сутки, затем – 100 мг 1 р/сут в течение 5–10 дней. Исследователь не мог влиять на выбор противовирусного препарата и длительность терапии.

В дальнейшем, с учетом цели исследования, пациенты были разделены на 2 группы: 1 группа (основная группа, $n=32$), у пациентов которой на фоне терапии ремдесивиром возникло повышение уровня трансаминаз, из них 19 (59%) женщин, средний возраст которых составил 68,6±12,2 лет, а также 13 (41%) мужчин, средний возраст – 68,5±12,3 лет; 2 группа (группа контроля, $n=68$), у пациентов которой не возникло ЛПП на фоне терапии ремдесивиром, из них 50 (74%) женщин со средним возрастом 75,1±12,2 лет и 18 (26%) мужчин со средним возрастом 75,0±12,4 лет.

На основании проведенного ретроспективного анализа историй болезней установлено, что указанные группы были сопоставимы по гендерной принадлежности, данным анамнеза – времени начала заболевания, результатам объективного осмотра, тяжести состояния, сопутствующим заболеваниям, лабораторным показателям, таким как общий анализ крови, биохимический анализ крови, включающий в себя определение уровней общего билирубина, глюкозы, креатинина, лактатдегидрогеназы и показателей синдрома системной воспалительной реакции: С-реактивного белка (СРБ), прокальцитонина и интерлейкина-6. Также изучаемые группы были сопоставимы по степени поражения легких согласно данным компьютерной томографии органов грудной клетки и по продолжительности госпитализации. При этом, группы различались по возрасту, индексу массы тела (ИМТ), уровню ферритина и D-димера в крови.

Молекулярно-генетическое исследование

У пациентов был произведен забор 10 мл венозной крови с помощью вакуумной системы Vacuette® (Greiner Bio-One, Австрия) в пробирки с этилендиаминтетраацетатом (ЭДТА). Цельную кровь и выделенную ДНК хранили при -80°C и транспортировали при -20°C . Генотипирование проводили на базе НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (Москва, Россия). Выделение геномной ДНК из цельной крови осуществляли с помощью набора реагентов S-Corb для выделения ДНК на кремниевом сорбенте (ООО «Синтол», Россия). Концентрацию экстрагированной ДНК определяли с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000 («Thermo Fisher Scientific», США). Определение носительства однонуклеотидного полиморфизма С>Т гена *CYP3A4*22* (*rs35599367*) проводили методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на приборе CFX96 Touch Real Time System с ПО CFX Manager версии 3.0 («BioRad», США) с использованием коммерческого набора «TaqMan® SNP Genotyping Assays» и «TaqMan Universal Master Mix II» («Applied Biosystems», США). Носительство полиморфного маркера А>G гена *CYP3A5*3* (*rs776746*) определяли с помощью коммерческого набора реагентов (ООО «Синтол», Россия). Определение однонуклеотидных генетических полиморфизмов проводили методом аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени на приборе CFX96 Touch Real Time System с ПО CFX Manager версии 3.0 («BioRad», США). Носительство полиморфного маркера *rs2244613* (А>С) гена *CES1* выявляли методом ПЦР в режиме реального времени с помощью наборов реагентов «ГенТест *CES1*» (ООО «Номотек», Россия) на амплификаторе Real-Time CFX96 Touch («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США).

Статистическая обработка

При статистической обработке полученных результатов использовали стандартный пакет прикладных программ StatSoft Statistica 10.0 («StatSoft», США). Для оценки нормальности распределения количественных данных использовали графический (гистограмма частот) и расчетный методы Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Учитывая нормальность распределения количественных данных, они были выражены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения ($M \pm SD$), для анализа межгрупповых различий количественных признаков использовали *t*-тест Стьюдента.

Качественные показатели представлены в виде абсолютных значений (*n*) и процентов (%). Для выявления межгрупповых различий частот качественных параметров и оценки их статистической значимости использовали тест χ^2 (хи-квадрат Пирсона). При малом числе наблюдений рассчитывали точный тест Фишера. Для оценки корреляции между изучаемыми параметрами рассчитывалось отношение шансов (ОШ) развития события с 95% доверительным интервалом (ДИ). Также был проведен многофакторный регрессионный анализ для выявления предикторов, связанных с развитием ЛПП на фоне терапии препаратом ремдесивир. Распределение частот генотипов всех изученных полиморфных маркеров соответствовало равновесию Харди-Вайнберга. Значимость выявленных различий и корреляций во всех видах анализа считали на уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Гендерно-возрастная характеристика

Анализ демографических данных показал, что возраст пациентов между изучаемыми группами статистически значимо различался ($p=0,015$). В группе пациентов с ЛПП средний возраст составил $68,6 \pm 12,2$ лет относительно пациентов группы контроля, средний возраст которых составил $75,1 \pm 12,2$ лет. При этом группы были сопоставимы по гендерной принадлежности ($\chi^2=2,038$, $p=0,153$).

Клинические характеристики

При проведении анализа клинических характеристик было выявлено, что высокий ИМТ в группе с ЛПП ($30,7 \pm 4,2$ кг/м²) против группы контроля ($27,3 \pm 5,5$ кг/м²) статистически значимо повышал вероятность развития ЛПП при терапии ремдесивиром ($p=0,003$). Наличие у пациента сахарного диабета также повышало вероятность развития ЛПП (табл. 1).

Анализ лабораторных данных до начала терапии ремдесивиром показал, что группы были сопоставимы по показателям общего и биохимического анализов крови, при этом отмечена статистически значимая разница в уровнях ферритина и D-димера. Уровень D-димера был в 2 раза выше в контрольной группе (табл. 2).

Таблица 1 – Сравнение клинических характеристик

Характеристики		Количество пациентов, <i>n</i>		<i>p</i> , χ^2	ОШ (95% ДИ)
		Основная группа (группа 1), <i>n</i> =32	Группа контроля (группа 2), <i>n</i> =68		
Возраст, лет		68,6±12,2	75,1±12,2	0,015 –	–
Индекс массы тела, кг/м ²		30,7±4,2	27,3±5,5	0,003 –	–
Нежелательные реакции в анамнезе		8	15	0,744 0,106	1,178 (0,440–3,152)
Тяжесть состояния	Средняя	22	43	0,793* –	–
	Тяжелая	6	13		
	Крайне тяжелая	4	12		
Коморбидность		28	61	0,742 0,108	0,803 (0,217–2,96)
Сердечно-сосудистые заболевания		26	59	0,471 0,519	0,661 (0,213–2,049)
Ишемическая болезнь сердца		11	30	0,355 0,854	0,663 (0,277–1,588)
Хроническая сердечная недостаточность		4	13	0,411* –	0,663 (0,180–2,026)
Артериальная гипертензия		28	58	0,767 0,088	1,207 (0,348–4,188)
Сахарный диабет		15	17	0,029** 4,785	2,647 (1,092–6,414)
Хроническая болезнь почек		0	14	0,006* –	–
Активный рак (диагностированный менее, чем за 6 мес до включения в исследование)		0	8	0,043* –	–
Энцефалопатия		17	44	0,268 1,227	0,618 (0,263–1,452)

Примечание: ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал; *p* – уровень значимости; χ^2 – критерий согласия Пирсона.
* Значение *p* было сопоставим с точным критерием Фишера. ** Различия статистически значимы.

Таблица 2 – Сравнение лабораторных данных основной и контрольной группы

Показатели общего и биохимического анализов крови	Основная группа (группа 1), <i>n</i> =32	Группа контроля (группа 2), <i>n</i> =68	<i>p</i>
Количество лейкоцитов, 10 ⁹ /л	6,7±3,8	7,1±3,6	0,652
Абсолютное количество нейтрофилов, 10 ⁹ /л	5,2±3,3	6,9±12,0	0,417
Абсолютное количество лимфоцитов, 10 ⁹ /л	1,0±0,5	1,1±0,8	0,686
Аланиновая трансаминаза, МЕ/л	33,7±20,4	35,7±38,8	0,791
Аспарагиновая трансаминаза, МЕ/л	49,7±22,5	46,1±31,6	0,564
Коэффициент де Ритиса	1,7±0,9	1,8±0,9	0,848
Глюкоза, ммоль/л	7,5±3,8	7,4±3,3	0,851
Креатинин, мкмоль/л	94,4±16,0	99,3±38,8	0,497
Лактатдегидрогеназа, МЕ/л	432,0±179,3	402,0±180,3	0,438
Ферритин, мг/моль	724,0±432,2	553,1±358,5	0,040**
Интерлейкин-6, пг/мл	159,3±329,9	100,6±208,1	0,282
Прокальцитонин, нг/мл	0,2±0,2	1,6±7,0	0,323
С-реактивный белок, мг/л	108,4±75,3	100,5±79,3	0,640
D-димер, нг/мл	1124,9±1109,0	2225,5±2429,5	0,016**

Примечание: *p* – уровень значимости. ** Различия статистически значимы.

Таблица 3 – Сравнение патогенетической лекарственной терапии пациентов с COVID-19

Препараты	Количество пациентов, <i>n</i>		<i>p</i> , χ^2	ОШ (95% ДИ)
	Основная группа (группа 1), <i>n</i> =32	Группа контроля (группа 2), <i>n</i> =68		
Глюкокортикостероиды	8	15	0,744 0,106	1,178 (0,440–3,152)
Ингибиторы янус-киназ	30	52	0,036** 4,402	4,615 (0,992–21,467)
Ингибиторы интерлейкина	32	59	0,031** 4,654	–
Повторное введение ингибиторов интерлейкина	9	15	0,508 0,439	1,383 (0,529–3,613)
Эноксапарин натрия	30	64	0,942 0,005	0,938 (0,163–5,405)

Примечание: ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал; *p* – уровень значимости; χ^2 – критерий согласия Пирсона.

** Различия статистически значимы.

Таблица 4 – Сравнение лекарственной терапии сопутствующих заболеваний

Препараты	Количество пациентов, <i>n</i>		<i>p</i> , χ^2	ОШ (95% ДИ)
	Основная группа (группа 1), <i>n</i> =32	Группа контроля (группа 2), <i>n</i> =68		
Антибактериальные препараты	14	36	0,391 0,735	0,691 (0,297–1,610)
Противогрибковые препараты (азолы)	2	2	0,431* –	2,200 (0,296–16,369)
Статины	17	18	0,009** 6,795	3,148 (1,307–7,581)
Бета-блокаторы	9	29	0,163 1,948	0,526 (0,212–1,305)
Блокаторы кальциевых каналов	7	21	0,349 0,876	0,627 (0,234–1,675)
Ингибиторы АПФ	18	13	0,000** 14,027	5,440 (2,160–13,699)
Блокаторы рецепторов ангиотензина II (сартаны)	2	13	0,093* –	0,282 0,060–1,334
Диуретики	11	23	0,957 0,003	1,025 (0,423–2,485)
Нестероидные противовоспалительные средства	8	23	0,373 0,792	0,652 (0,254–1,678)
Антипсихотики	4	11	0,631* –	0,740 (0,216–2,534)
Прокинетики	3	12	0,280* –	0,483 (0,126–1,848)
Ингибиторы протонной помпы	31	67	0,581 0,304	0,463 (0,028–7,642)
Бигуаниды	3	2	0,168* –	3,414 (0,541–21,532)
Салицилаты	3	5	0,728* –	1,303 (0,292–5,827)

Примечание: АПФ – ангиотензинпревращающий фермент; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал; *p* – уровень значимости; χ^2 – критерий согласия Пирсона. * *p* соответствует точному критерию Фишера. ** Различия статистически значимы.

Таблица 5 – Генетические данные

Ген	Генотип	Количество пациентов, n		p, χ^2	ОШ (95% ДИ)
		Основная группа (группа 1), n=32	Группа контроля (группа 2), n=68		
CYP3A5 (rs776746) A>G	AA	22	61	0,009** 6,772	0,252 (0,086–0,745)
	AG	10	7	0,009** 6,772	3,961 (1,343–11,686)
	GG	0	0	–	–
CYP3A4 (rs35599367) C>T	CC	31	65	0,759 0,094	1,431 (0,143–14,317)
	CT	1	3	0,759* –	0,699 (0,070–6,994)
	TT	0	0	–	–
CES1 (rs2244613) A>C	AA	25	43	0,136 2,217	2,076 (0,785–5,490)
	AC	4	21	0,048* –	0,320 (0,100–1,027)
	CC	3	4	0,523* –	1,655 (0,348–7,876)

Примечание: ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал; p – уровень значимости; χ^2 – критерий согласия Пирсона.
* p соответствует точному критерию Фишера. ** Различия статистически значимы.

Таблица 6 – Прогноз риска лекарственного поражения печени на фоне терапии ремдесивиром

Параметр	Коэффициент регрессии, B±SE	95% ДИ	ОШ	p
Перехват	–7,195±1,782	[–10,688; –3,702]	–	<0,001
Индекс массы тела	0,183±0,055	[0,075; 0,29]	1,2 [1,08; 1,34]	<0,001
Ингибиторы АПФ	2,215±0,577	[1,083; 3,346]	9,16 [2,95; 28,39]	<0,001
CYP3A5 AG	1,567±0,662	[0,269; 2,864]	4,79 [1,31; 17,54]	0,018

Примечание: ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал; АПФ – ангиотензинпревращающий фермент; p – уровень значимости.

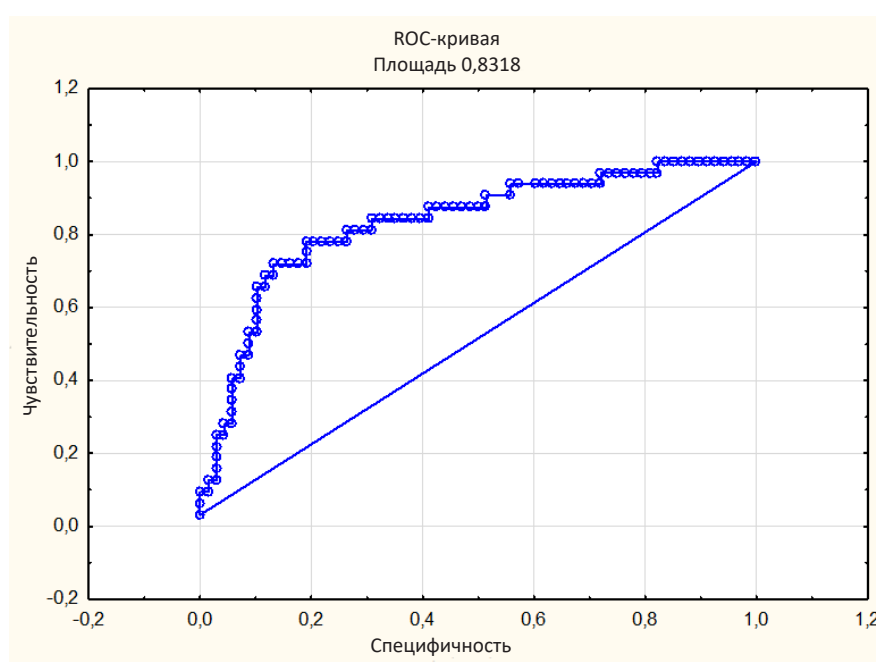


Рисунок 1 – ROC-кривая логистической регрессионной модели

Лекарственная терапия

При анализе патогенетической лекарственной терапии COVID-19 было выявлено, что совместное назначение ингибиторов интерлейкина достоверно повышало вероятность ЛПП, однако в 1 группе количество пациентов, которые применяли ингибиторы интерлейкина, соответствовало 100%, что требует дальнейшего изучения влияния патогенетической лекарственной терапии COVID-19 на развитие ЛПП при терапии ремдесивиром на большей выборке. Нами выявлены статистически значимые различия в изучаемых группах при совместной терапии ингибиторами янускиназа, однако ОШ (95% ДИ) не достигло уровня статистической значимости (табл. 3).

Анализ лекарственной терапии, применяемой для лечения сопутствующих заболеваний, показал, что совместное применение препаратов из группы ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы (статины), а также группы ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ) достоверно повышали шанс развития ЛПП при терапии ремдесивиром (вероятность повышалась в среднем в 3,14 и 5,44 раз соответственно; табл. 4).

Генетические данные

Пациенты, являющиеся гетерозиготой по полиморфному маркеру *rs776746* гена *CYP3A5*, статистически значимо имели вероятность возникновения у них ЛПП при терапии ремдесивиром в среднем в 3,96 раз больше, в то время как носители «дикого» генотипа достоверно реже оказывались в группе пациентов с ЛПП (табл. 5).

Клинические исходы

Средняя продолжительность госпитализации в 1 группе составила $12,5 \pm 6,9$ койко-дней, во 2 группе – $13,0 \pm 10,9$ койко-дней. Статистически значимой разницы в продолжительности госпитализации у изучаемых групп не было ($p=0,813$).

Многофакторный логистический регрессионный анализ

В результате многофакторного логистического регрессионного моделирования получена ROC-кривая прогноза риска развития ЛПП на фоне терапии ремдесивиром (Рис. 1, табл. 6). Моделирование выполняли с пошаговым исключением на основании статистики Хи-квадрат Вальда. Полученная модель обобщала 38,9% дисперсии прогнозируемого исхода и позволила сделать прогноз риска развития ЛПП у пациентов, получавших ремдесивир, с точностью 83,2%. При этом прогноз полностью соответствовал фактическим данным (Тест Хосмера-Лемешова, $p=0,831$).

Было выявлено, что избыточный ИМТ повышал риск развития ЛПП на фоне терапии ремдесивиром в среднем на 20% на каждую единицу показателя ($p < 0,001$).

Сопутствующий прием препаратов из группы ингибиторов АПФ повышал риск развития ЛПП на фоне терапии ремдесивиром в среднем в 9,16 раз ($p < 0,001$).

Носительство генотипа AG по полиморфному маркеру *rs776746* гена *CYP3A5* повышал риск развития ЛПП на фоне терапии ремдесивиром в среднем в 4,79 раз относительно других генотипов ($p=0,018$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно различным исследованиям, распространенность НР при терапии ремдесивиром составляет от 12¹ до 66% [8]. При этом одной из наиболее распространенных НР является увеличение активности АЛТ и АСТ, что свидетельствует о поражении печени. В литературе сообщалось о более серьезных и потенциально фатальных побочных эффектах, включая брадикардию и почечную недостаточность [9, 10]. Поэтому возникает необходимость разработки персонализированного подхода для своевременного прогнозирования развития осложнений при использовании ремдесивира для лечения пациентов с COVID-19. Имеющиеся научные работы в этой области немногочисленны.

По данным клинических рекомендаций, предрасполагающими факторами к развитию идиосинкразического ЛПП являются: возраст, пол, беременность, истощение, ожирение и сахарный диабет, а также ЛПП в анамнезе².

В одном из обсервационных исследований не было выявлено значимой связи между возрастом и возникновением НР при терапии COVID-19 [11]. В нашем исследовании мы обнаружили, что пациенты, у которых возникло ЛПП, в среднем имели более молодой возраст по сравнению с группой, в которой у пациентов не развилась данной НР. При этом нами не было выявлено влияния половой принадлежности на повышение риска развития ЛПП.

В проведенном нами исследовании была выявлена связь развития ЛПП при терапии ремдесивиром с повышением ИМТ и наличием сахарного диабета. При этом увеличение ИМТ на каждую единицу показателя повышало риск развития ЛПП в среднем на 20%.

Течение COVID-19 ассоциировано с активно происходящими процессами воспаления [12]. Как известно, факторы, вызывающие воспаление, в частности, ИЛ-6, снижают активность и экспрессию ферментов системы цитохрома P450 в печени [13, 14], что может повысить риск возникновения НР при фармакотерапии COVID-19.

¹ U.S. Food and Drug Administration. Gilead Sciences, Inc. VEKLURY® (remdesivir) for injection, for intravenous use. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2022/214787Orig1s010Lbl.pdf

² Министерство здравоохранения Российской Федерации. Клинические рекомендации. Лекарственные поражения печени (ЛПП) у взрослых, 2022. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/747_1?ysclid=lm9n3chyjg835121911

Имеется предположение, что ключевым патогенетическим молекулярным шагом течения COVID-19 является атака на гемоглобин, приводящая к диссоциации порфиринов и железа и высвобождению последнего в кровотоке. Таким образом, гемоглобин теряет способность связываться с кислородом и препятствует его доставке к основным органам, что сопровождается быстрым развитием полиорганной недостаточности. Кроме того, свободное железо, попавшее в кровоток, может привести к перегрузке, вызывающей окислительное повреждение легких и других органов. Перегрузка железом также может привести к воспалению и иммунной дисфункции. В пользу этого говорит повышенная концентрация ферритина в крови больных COVID-19. Высокая нагрузка железом приводит к повышению вязкости крови с рецидивирующими и диффузными макро- и микроциркуляторными тромбозами [15]. Учитывая этот факт, выявленный нами более высокий уровень ферритина у группы с ЛПП может свидетельствовать о возможной связи уровня ферритина с риском развития ЛПП при терапии ремдесивиром. Нами также выявлена тенденция к более высокому уровню ИЛ-6 у пациентов с ЛПП, однако она не достигла статистически значимой разницы.

Согласно данным клинических рекомендаций по ЛПП у взрослых, к препаратам, имеющим риск ЛПП, относятся: антибактериальные, противогрибковые препараты системного действия (азолы), статины, НПВП, ацетилсалициловая кислота, антигипертензивные средства, иАПФ и блокаторы кальциевых каналов³. При этом клинических исследований лекарственного взаимодействия ремдесивира не зафиксировано⁴.

По данным других исследований, самой распространенной НР при применении ингибиторов интерлейкинов было поражение печени, проявляющееся повышением активности печеночных трансаминаз (АЛТ, АСТ), с частотой встречаемости от 3,7 до 35,8% [16–23]. В исследовании STOP-COVID [24] было выявлено, что при терапии ингибиторами янус-киназ с наибольшей частотой наблюдалось повышение печеночных ферментов (4,2%).

В связи с этим, при совместном назначении ремдесивира с данными препаратами, теоретически повышается риск токсического действия на печень. Мы выявили, что совместная терапия иАПФ, статинами и ингибиторами интерлейкина повышает риск развития ЛПП. При терапии иАПФ этот риск повышается в среднем в 9,16 раз. Нами также выявлены статистически значимые различия в изучаемых группах по совместной терапии ингибиторами янус-киназ с повышением вероятности возникновения ЛПП при совместной терапии

данной группой препаратов, однако ОШ (95% ДИ) не достигло уровня статистической значимости.

Ремдесивир подвергается интенсивному метаболизму с образованием GS-443902, фармакологически активного аналога нуклеозида трифосфата. Ремдесивир первоначально подвергается гидролизу эстеразами, образуя промежуточный метаболит GS-704277. Карбоксилэстераза 1 и катепсин А ответственны за 80 и 10% метаболизма ремдесивира соответственно, а CYP3A отвечает за оставшиеся 10%. Фосфорамидатное расщепление GS-704277 и дальнейшее фосфорилирование полученного нуклеозидного аналога монофосфата приводит к образованию GS-443902. Дефосфорилирование всех фосфорилированных метаболитов может привести к образованию аналога нуклеозида GS-441524 [25].

CYP3A5*3, определяемая интронным вариантом (NM_000777.5: c.219-237A>G; rs776746), связана с плохим метаболизмом (исторически также известна как неэкспрессорный фенотип) [5]. В результате проведенного исследования выявлено, что носительство генотипа AG по полиморфному маркеру rs776746 гена CYP3A5 связано с повышением риска развития ЛПП при терапии ремдесивиром в среднем в 4,79 раз относительно других генотипов.

Ограничения исследования

Ограничениями нашего исследования были: небольшой объем выборки, по этой причине некоторые возможные клинически значимые ассоциации между факторами не могли быть доказаны статистическими методами; ограниченное число генов-кандидатов и аллельных вариантов в анализе; ограниченный период наблюдения. По дизайну исследование соответствовало «случай-контроль», в связи с чем имеет присущие этому типу недостатки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты анализа взаимосвязи развития ЛПП при терапии ремдесивиром с гендерно-возрастными, клинико-анамнестическими, лабораторными показателями и сопутствующей лекарственной терапией показали, что высокий ИМТ, сахарный диабет в анамнезе, высокий уровень ферритина в крови, совместная терапия иАПФ и статинами, а также носительство генотипа AG по полиморфному маркеру rs776746 гена CYP3A5 достоверно чаще встречались у пациентов с ЛПП. Полученные результаты свидетельствуют о том, что при назначении терапии ремдесивиром необходимо учитывать эти факторы для проведения более тщательного мониторинга клинических и лабораторных признаков поражения печени у этих групп пациентов, а в дальнейшем – проводить разработку персонализированного подхода к фармакотерапии пациентов с COVID-19.

³ Там же.

⁴ U.S. Food and Drug Administration. Gilead Sciences, Inc. VEKLURY® (remdesivir) for injection, for intravenous use, 2022

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данная работа выполнена при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации тематика государственного задания «Разработка системы поддержки принятия врачебных решений для прогнозирования нежелательных лекарственных реакций у пациентов с COVID-19 на основе фармакогенетического тестирования» (ЕГИСУ НИОКТР №122021800321-2).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Ю.В. Шевчук – идея и концепция исследования, проведение исследования, систематизация данных литературы, написание и редактирование текста рукописи, формулировка выводов; А.В. Крюков – идея и разработка концепции рукописи, систематизация литературных данных, редактирование текста, формулировка выводов, утверждение окончательной версии рукописи для публикации; И.И. Темирбулатов – анализ и интерпретация данных литературы, участие в проведении исследования, анализ и обсуждение полученных результатов; И.В. Сычев – статистическая обработка данных, редактирование текста рукописи, формулировка выводов; К.Б. Мирзаев – разработка концепции исследования, критический пересмотр содержания и результатов работы, редактирование текста рукописи; Н.П. Денисенко – анализ и интерпретация данных литературы, редактирование текста рукописи, участие в проведении исследования; Ш.П. Абдуллаев – анализ данных литературы, редактирование текста рукописи; С.Н. Тучкова – лабораторная обработка материалов; В.И. Вечорко – критический пересмотр рукописи, утверждение окончательной версии разделов рукописи для публикации; О.В. Аверков – участие в разработке концепции рукописи, редактирование отдельных разделов рукописи; Д.А. Сычев – разработка концепции исследования, критический анализ полученных результатов, утверждение окончательного варианта рукописи для публикации. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Alsuhaibani D.S., Edrees H.H., Alshammari T.M. The use and safety risk of repurposed drugs for COVID-19 patients: lessons learned utilizing the Food and Drug Administration's Adverse Event Reporting System // Saudi Pharm J. – 2023. – Vol. 31, No. 7. – P. 1360–1366. DOI: 10.1016/j.jsps.2023.05.023
2. Pantazis N., Pechlivanidou E., Antoniadou A., Akinosoglou K., Kalomenidis I., Poulakou G., Milionis H., Panagopoulos P., Marangos M., Katsarolis I., Kazakou P., Dimakopoulou V., Chaliasou A.L., Rapti V., Christaki E., Lontos A., Petrakis V., Schinas G., Biros D., Rimpa M.C., Touloumi G. Remdesivir: Effectiveness and Safety in Hospitalized Patients with COVID-19 (ReEs-COVID-19)-Analysis of Data from Daily Practice // Microorganisms. – 2023. – Vol. 11, No. 8. – Art. ID: 1998. DOI: 10.3390/microorganisms11081998
3. Deb S., Reeves A.A., Hopefl R., Bejusca R. ADME and Pharmacokinetic Properties of Remdesivir: Its Drug Interaction Potential // Pharmaceuticals (Basel). – 2021. – Vol. 14, No. 7. – Art. ID: 655. DOI: 10.3390/ph14070655
4. Zhang Q., Melchert P.W., Markowitz J.S. In vitro evaluation of the impact of Covid-19 therapeutic agents on the hydrolysis of the antiviral prodrug remdesivir // Chem Biol Interact. – 2022. – Vol. 365. – Art. ID: 110097. DOI: 10.1016/j.cbi.2022.110097
5. Pratt V.M., Cavallari L.H., Fulmer M.L., Gaedigk A., Hachad H., Ji Y., Kalman L.V., Ly R.C., Moyer A.M., Scott S.A., van Schaik R.H.N., Whirl-Carrillo M., Weck K.E. CYP3A4 and CYP3A5 Genotyping Recommendations: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium, College of American Pathologists, Dutch Pharmacogenetics Working Group of the Royal Dutch Pharmacists Association, European Society for Pharmacogenomics and Personalized Therapy, and Pharmacogenomics Knowledgebase // J Mol Diagn. – 2023. – Vol. 25, No. 9. – P. 619–629. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2023.06.008
6. Flockhart D.A., Thacker D., McDonald C., Desta Z. The Flockhart Cytochrome P450 Drug-Drug Interaction Table. Division of Clinical Pharmacology, Indiana University School of Medicine (Updated 2021). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://drug-interactions.medicine.iu.edu/>.
7. Whirl-Carrillo M., Huddart R., Gong L., Sangkuhl K., Thorn C.F., Whaley R., Klein T.E. An Evidence-Based Framework for Evaluating Pharmacogenomics Knowledge for Personalized Medicine // Clin Pharmacol Ther. – 2021. – Vol. 110, No. 3. – P. 563–572. DOI: 10.1002/cpt.2350
8. Wang Y., Zhang D., Du G., Du R., Zhao J., Jin Y., Fu S., Gao L., Cheng Z., Lu Q., Hu Y., Luo G., Wang K., Lu Y., Li H., Wang S., Ruan S., Yang C., Mei C., Wang Y., Ding D., Wu F., Tang X., Ye X., Ye Y., Liu B., Yang J., Yin W., Wang A., Fan G., Zhou F., Liu Z., Gu X., Xu J., Shang L., Zhang Y., Cao L., Guo T., Wan Y., Qin H., Jiang Y., Jia T., Hayden F.G., Horby P.W., Cao B., Wang C. Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial // Lancet. – 2020. – Vol. 395, No. 10236. – P. 1569–1578. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31022-9
9. Touafchia A., Bagheri H., Carrié D., Durrieu G., Sommet A., Chouchana L., Montastruc F. Serious bradycardia and remdesivir for coronavirus 2019 (COVID-19). – P. a new safety concerns // Clin Microbiol Infect. – 2021. – Vol. 27, No. 5. – P. 791.e5–8. DOI: 10.1016/j.cmi.2021.02.013
10. Gérard A.O., Laurain A., Fresse A., Parassol N., Muzzone M., Rocher F., Esnault V.L.M., Drici M.D. Remdesivir and Acute Renal Failure: A Potential Safety Signal

- From Disproportionality Analysis of the WHO Safety Database // *Clin Pharmacol Ther.* – 2021. – Vol. 109, No. 4. – P. 1021–1024. DOI: 10.1002/cpt.2145
11. Nazir N., Chopra D., Bhandari B., Sidhu J.K. Adverse Drug Reactions in Corona Virus Disease Patients Admitted to Intensive Care Unit: An Observational Study // *Curr Drug Saf.* – 2023. – Vol. 18, No. 2. – P. 202–206. DOI: 10.2174/1574886317666220513095618
 12. Merad M., Blish CA, Sallusto F, Iwasaki A. The immunology and immunopathology of COVID-19 // *Science.* – 2022. – Vol. 375, No. 6585. – P. 1122–1127. DOI: 10.1126/science.abm8108
 13. Stavropoulou E., Pircalabioru G.G., Bezirtzoglou E. The Role of Cytochromes P450 in Infection // *Front Immunol.* 2018. – Vol. 9. – Art. ID: 89. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00089
 14. Morgan E.T. Impact of infectious and inflammatory disease on cytochrome P450-mediated drug metabolism and pharmacokinetics // *Clin Pharmacol Ther.* – 2009. – Vol. 85, No. 4. – P. 434–438. DOI: 10.1038/clpt.2008.302
 15. Habib H.M., Ibrahim S., Zaim A., Ibrahim W.H. The role of iron in the pathogenesis of COVID-19 and possible treatment with lactoferrin and other iron chelators // *Biomed Pharmacother.* – 2021. – Vol. 136. – Art. ID: 111228. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111228
 16. Stone J.H., Frigault M.J., Serling-Boyd N.J., Fernandes A.D., Harvey L., Foulkes A.S., Horick N.K., Healy B.C., Shah R., Bensaci A.M., Woolley A.E., Nikiforow S., Lin N., Sagar M., Schrager H., Huckins D.S., Axelrod M., Pincus M.D., Fleisher J., Sacks C.A., Dougan M., North C.M., Halvorsen Y.D., Thurber T.K., Dagher Z., Scherer A., Wallwork R.S., Kim A.Y., Schoenfeld S., Sen P., Neilan T.G., Perugino C.A., Unizony S.H., Collier D.S., Matza M.A., Vinh J.M., Bowman K.A., Meyerowitz E., Zafar A., Drobni Z.D., Bolster M.B., Kohler M., D'Silva K.M., Dau J., Lockwood M.M., Cubbison C., Weber B.N., Mansour M.K; BACC Bay Tocilizumab Trial Investigators. Efficacy of Tocilizumab in Patients Hospitalized with Covid-19 // *N Engl J Med.* – 2020. – Vol. 383, No. 24. – P. 2333–2344. DOI: 10.1056/NEJMoa2028836
 17. Perrone F., Piccirillo M.C., Ascierto PA., Salvarani C., Parrella R., Marata A.M., Popoli P., Ferraris L., Marrocco-Trischitta M.M., Ripamonti D., Binda F., Bonfanti P., Squillace N., Castelli F., Muesan M.L., Lichtner M., Calzetti C., Salerno N.D., Atripaldi L., Cascella M., Costantini M., Dolci G., Facciolo N.C., Fraganza F., Massari M., Montesarchio V., Mussini C., Negri E.A., Botti G., Cardone C., Gargiulo P., Gravina A., Schettino C., Arenare L., Chiodini P., Gallo C.; TOCIVID-19 investigators, Italy. Tocilizumab for patients with COVID-19 pneumonia. The single-arm TOCIVID-19 prospective trial // *J Transl Med.* – 2020. – Vol. 18, No. 1. – Art. ID: 405. DOI: 10.1186/s12967-020-02573-9
 18. Lescure F.X., Honda H., Fowler R.A., Lazar J.S., Shi G., Wung P., Patel N., Hagino O.; Sarilumab COVID-19 Global Study Group. Sarilumab in patients admitted to hospital with severe or critical COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial // *Lancet Respir Med.* – 2021. – Vol. 9, No. 5. – P. 522–532. DOI: 10.1016/S2213-2600(21)00099-0
 19. Hermine O., Mariette X., Porcher R., Resche-Rigon M., Tharaux P.L., Ravaud P.; CORIMUNO-19 Collaborative Group. Effect of interleukin-6 receptor antagonists in critically ill adult patients with COVID-19 pneumonia: two randomised controlled trials of the CORIMUNO-19 Collaborative Group // *Eur Respir J.* – 2022. – Vol. 60, No. 2. – Art. ID: 2102523. DOI: 10.1183/13993003.02523-2021
 20. Cavalli G., De Luca G., Campochiaro C., Della-Torre E., Ripa M., Canetti D., Oltolini C., Castiglioni B., Tassan Din C., Boffini N., Tomelleri A., Farina N., Ruggeri A., Rovere-Querini P., Di Lucca G., Martinenghi S., Scotti R., Tresoldi M., Ciceri F., Landoni G., Zangrillo A., Scarpellini P., Dagna L. Interleukin-1 blockade with high-dose anakinra in patients with COVID-19, acute respiratory distress syndrome, and hyperinflammation: a retrospective cohort study // *Lancet Rheumatol.* – 2020. – Vol. 2, No. 6. – P. e325–e331. DOI: 10.1016/S2665-9913(20)30127-2
 21. Kyriazopoulou E., Poulakou G., Milionis H., Metallidis S., Adamis G., Tsiakos K., Fragkou A., Rapti A., Damoulari C., Fantoni M., Kalomenidis I., Chrysos G., Angheben A., Kainis I., Alexiou Z., Castelli F., Serino FS., Tsilika M., Bakakos P., Nicastrì E., Tzavara V., Kostis E., Dagna L., Koufargyris P., Dimakou K., Savvanis S., Tzatzagou G., Chini M., Cavalli G., Bassetti M., Katrini K., Kotsis V., Tsoukalas G., Selmi C., Bliziotis I., Samarkos M., Doumas M., Ktena S., Masgala A., Papanikolaou I., Kosmidou M., Myrodis DM., Argyraki A., Cardellino CS., Koliakou K., Katsigianni E.I., Rapti V., Giannitsioti E., Cingolani A., Micha S., Akinosoglou K., Liatsis-Douvitsas O., Symbardi S., Gatselis N., Mouktaroudi M., Ippolito G., Florou E., Kotsaki A., Netea M.G., Eugen-Olsen J., Kyprianou M., Panagopoulos P., Dalekos G.N., Giamarellos-Bourboulis E.J. Early treatment of COVID-19 with anakinra guided by soluble urokinase plasminogen receptor plasma levels: a double-blind, randomized controlled phase 3 trial // *Nat Med.* – 2021. – Vol. 27, No. 10. – P. 1752–1760. DOI: 10.1038/s41591-021-01499-z
 22. Huet T., Beaussier H., Voisin O., Jouvesshomme S., Dauriat G., Lazareth I., Sacco E., Naccache J.M., Bézie Y., Laplanche S., Le Berre A., Le Pavé J., Salmeron S., Emmerich J., Mourad J.J., Chatellier G., Hayem G. Anakinra for severe forms of COVID-19: a cohort study // *Lancet Rheumatol.* – 2020. – Vol. 2, No. 7. – P. e393–e400. DOI: 10.1016/S2665-9913(20)30164-8
 23. Lomakin N.V., Bakirov B.A., Protchenko D.N., Mazurov V.I., Musaev G.H., Moiseeva O.M., Pasechnik E.S., Popov V.V., Smolyarchuk E.A., Gordeev I.G., Gilyarov M.Y., Fomina D.S., Seleznev A.I., Linkova Y.N., Dokukina E.A., Ereemeeva A.V., Pukhtinskaya P.S., Morozova M.A., Zinkina-Orikhan A.V., Lutskii A.A. The efficacy and safety of levilimab in severely ill COVID-19 patients not requiring mechanical ventilation: results of a multicenter randomized double-blind placebo-controlled phase III CORONA clinical study // *Inflamm Res.* – 2021. – Vol. 70, No. 10–12. – P. 1233–1246. DOI: 10.1007/s00011-021-01507-5
 24. Jorgensen S.C.J., Tse C.L.Y., Burry L., Dresser L.D. Baricitinib: A Review of Pharmacology, Safety, and Emerging Clinical Experience in COVID-19 // *Pharmacotherapy.* – 2020. – Vol. 40, No. 8. – P. 843–856. DOI: 10.1002/phar.2438
 25. Blair H.A. Remdesivir: A Review in COVID-19 // *Drugs.* – 2023. – Vol. 83, No. 13. – P. 1215–1237. DOI: 10.1007/s40265-023-01926-0

АВТОРЫ

Шевчук Юлия Викторовна – аспирант кафедры клинической фармакологии и терапии им. академика Б.Е. Вотчала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; врач-клинический фармаколог ГБУЗ «ГКБ № 15 им. О.М. Филатова ДЗМ». ORCID ID: 0000-0003-2289-1900. E-mail: ju-viktorovna@yandex.ru

Крюков Александр Валерьевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической фармакологии и терапии им. академика Б.Е. Вотчала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; заведующий отделом клинической фармакологии ГБУЗ «ГКБ № 15 им. О.М. Филатова ДЗМ». ORCID ID: 0000-0001-7903-2977. E-mail: alex.kryukov90@yandex.ru

Темирбулатов Ильяс Ильдарович – аспирант кафедры клинической фармакологии и терапии им. академика Б.Е. Вотчала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1242-0833. E-mail: temirbulatov.ilyas@gmail.com

Сычев Иван Витальевич – аспирант кафедры факультетской терапии ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0003-0227-2651. E-mail: sychev_iv@bk.ru

Мирзаев Карин Бадавиевич – доктор медицинских наук, проректор по научной работе и инновациям ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-9307-4994. E-mail: karin05doc@yandex.ru

Денисенко Наталья Павловна – кандидат медицинских наук, заместитель директора НИИ молекулярной и персонализированной медицины, заведующий отделением персонализированной

медицины Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО. ORCID ID: 0000-0003-3278-5941. E-mail: natalypilipenko3990@gmail.com

Абдуллаев Шерзод Пардабоевич – кандидат биологических наук, заведующий отделом предиктивных и прогностических биомаркеров НИИ молекулярной и персонализированной медицины, ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-9001-1499. E-mail: abdullaevsp@gmail.com

Тучкова Светлана Николаевна – младший научный сотрудник НИИ МПМ РМАНПО Минздрава России. E-mail: svetlana.tuch1998@gmail.com

Вечорко Валерий Иванович – доктор медицинских наук, главный врач ГБУЗ «ГКБ № 15 им. О.М. Филатова ДЗМ», профессор кафедры организации здравоохранения и общественного здоровья ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-3568-5065. E-mail: gkb15@zdrav.mos.ru

Аверков Олег Валерьевич – доктор медицинских наук, профессор, заместитель главного врача, руководитель регионального сосудистого центра ГБУЗ «ГКБ № 15 им. О.М. Филатова ДЗМ». ORCID ID: 0000-0002-3010-755X. E-mail: oleg.averkov@gmail.com

Сычев Дмитрий Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, ректор, заведующий кафедрой клинической фармакологии и терапии им. академика Б.Е. Вотчала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; академик РАН. ORCID ID: 0000-0002-4496-3680. E-mail: dmitry.alex.sychev@gmail.com

УДК 543.51+543.54:615.076



Изучение биотрансформации нового селективного ингибитора карбоангидразы II 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида

А.Л. Хохлов¹, И.И. Яичков^{1,2}, А.А. Шетнев², С.А. Ивановский²,
М.К. Корсаков², О.А. Гасилина², Н.Н. Вольхин², С.С. Петухов^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 150000, Россия, г. Ярославль, ул. Революционная, д. 5

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского», 150030, Россия, г. Ярославль, ул. Технопарковая, д. 11/2

E-mail: i.yaichkov@yspu.org

Получена 11.07.2023

После рецензирования 10.08.2023

Принята к печати 28.08.2023

Цель. Определение продуктов биотрансформации нового селективного ингибитора карбоангидразы II – 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида.

Материалы и методы. Исследование проводили на 3 крысах-самцах породы Wistar и 3 кроликах породы Советская шиншилла. Суспензию препарата вводили внутривенным способом крысам в дозировке 20 мг/кг, кроликам – в дозировке 1,6 мг/кг. Образцы крови животных отбирали до введения и через 1, 2, 4 и 24 ч после. У крыс также выполняли забор мочи до введения и в промежутки 0–4, 4–8 и 8–24 ч после. Идентификацию метаболитов в крови, моче и плазме осуществляли с помощью метода ВЭЖХ-МС/МС. Для хроматографического разделения использовали колонку Poroshell 120EC-C18 (50×3,0 мм, 2,7 мкм) с предколонкой Zorbax Eclipse Plus C18 (12,5×2,1 мм, 5,0 мкм). Предполагаемые метаболиты синтезировали, подтверждали их структуру методом ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения. Полученные вещества сопоставляли с идентифицированными в биологических жидкостях веществами по времени удерживания, основным MRM-переходам и масс-спектрам.

Результаты. При анализе проб плазмы, крови и мочи обнаружен N-гидроксиметаболит, образовавшийся путём присоединения атома кислорода к молекуле препарата. Хроматографические пики данного соединения были идентифицированы на MRM-переходах 255→159, 255→117, 255→89 m/z на 7,2 мин анализа. Были синтезированы N-оксид 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида и N-гидрокси-4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамид, которые потенциально могли быть получены в процессе биотрансформации. В ходе подтверждающих ВЭЖХ-МС/МС-испытаний по совпадению времён удерживания, соотношения площадей пиков на основных MRM-переходах и масс-спектров установлено, что идентифицированный метаболит – N-гидроксипроизводное препарата. Хроматографические пики N-оксида, обнаруженные при анализе модельных смесей стандартного образца на MRM-переходах 255→175, 255→133, 255→89 m/z при времени удерживания 5,43 мин, отсутствовали в образцах животных.

Закключение. Изучаемый препарат метаболизируется с образованием единственного метаболита N-гидрокси-4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида. Данное соединение обнаружено в свежееотобранных пробах биологических жидкостей обоих видов животных. Структура метаболита подтверждена методом ВЭЖХ-МС/МС путём сравнения с синтезированным стандартным образцом.

Ключевые слова: биотрансформация; идентификация метаболитов; селективный ингибитор карбоангидразы II; ВЭЖХ-МС/МС; N-гидроксисульфонамид

Список сокращений: OXSA – 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамид; ВЭЖХ-МС/МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с tandemным масс-спектрометрическим детектированием; ESI – ионизация электрораспылением; MRM – режим мониторинга множественных реакций; MS2 – режим получения масс-спектра молекулярного иона; t_R – время удерживания; DMSO-D6 – дейтерированный диметилсульфоксид; DIPEA – диизопропилэтиламин.

Для цитирования: А.Л. Хохлов, И.И. Яичков, А.А. Шетнев, С.А. Ивановский, М.К. Корсаков, О.А. Гасилина, Н.Н. Вольхин, С.С. Петухов. Изучение биотрансформации нового селективного ингибитора карбоангидразы II 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида. *Фармация и фармакология*. 2023;11(3):240-254. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-3-240-254

© А.Л. Хохлов, И.И. Яичков, А.А. Шетнев, С.А. Ивановский, М.К. Корсаков, О.А. Гасилина, Н.Н. Вольхин, С.С. Петухов, 2023

For citation: A.L. Khokhlov, I.I. Yaichkov, A.A. Shetnev, S.A. Ivanovskiy, M.K. Korsakov, O.A. Gasilina, N.N. Volkhin, S.S. Petukhov. Study of biotransformation of new selective carbonic anhydrase II inhibitor 4-(2-methyl-1,3-oxazole-5-yl)-benzenesulfonamide. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(3):240-254. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-3-240-254

Study of biotransformation of new selective carbonic anhydrase II inhibitor 4-(2-methyl-1,3-oxazole-5-yl)-benzenesulfonamide

A.L. Khokhlov¹, I.I. Yaichkov^{1,2}, A.A. Shetnev², S.A. Ivanovskiy²,
M.K. Korsakov², O.A. Gasilina², N.N. Volkhin², S.S. Petukhov^{1,2}

¹ Yaroslavl State Medical University,
5, Revolutsionnaya Str., Yaroslavl, Russia, 150000

² Yaroslavl State Pedagogical University named after K.D. Ushinsky,
Bldg 2, 11, Technoparkovaya Str., Yaroslavl, Russia, 150030

E-mail: i.yaichkov@yspu.org

Received 11 July 2023

After peer review 10 Aug 2023

Accepted 28 Aug 2023

The aim of the study was to determine biotransformation products of a new selective carbonic anhydrase II inhibitor – 4-(2-methyl-1,3-oxazole-5-yl)-benzenesulfonamide.

Materials and methods. The study was conducted on 3 Wistar rats and 3 rabbits of the Soviet Chinchilla breed. The suspension of the drug was administered intraperitoneally to rats at a dosage of 20 mg/kg, to rabbits - at a dosage of 1.6 mg/kg. The animal blood samples were collected before the administration and 1, 2, 4, 24 h after. Urine sampling was also performed in the rats before the administration and in the intervals of 0–4, 4–8, 8–24 h after. The identification of metabolites in blood, urine and plasma was carried out using HPLC-MS/MS. Poroshell 120 C 18 column (50×3.0 mm, 2.7 μm) with a Zorbax Eclipse Plus C18 pre-column (12.5×2.1 mm, 5.0 μm) was used for the chromatographic separation. The assumed metabolites were synthesized, their structure was confirmed by the NMR spectroscopy method and a high-resolution mass spectrometry. The obtained substances were compared with the substances identified in biological fluids by retention time, the main MRM-transitions and mass spectra.

Results. The N-hydroxymetabolite was revealed in the analyses of plasma, blood and urine samples which had been formed by the addition of an oxygen atom to the drug molecule. Chromatographic peaks of this compound were identified at the MRM-transitions of 255→159, 255→117, 255→89 m/z at the 7.2nd min of the analysis. The N-oxide of 4-(2-methyl-1,3-oxazole-5-yl)-benzenesulfonamide and N-hydroxy-4-(2-methyl-1,3-oxazole-5-yl)-benzenesulfonamide were synthesized; potentially, they could have been obtained during the biotransformation. During the confirmatory HPLC-MS/MS tests based on the coincidence of the retention times, the main MRM transitions and mass spectra, the ratio of the peak areas at the identified metabolite it was established that an N-hydroxy derivative. Chromatographic peaks of the N-oxide detected in the analysis of the model mixtures of the standard substance at the MRM-transitions of 255→175, 255→133, 255→89 m/z at the retention time of 5.43 min, were absent in the animal samples.

Conclusion. The studied drug is metabolized to form a single metabolite of N-hydroxy-4-(2-methyl-1,3-oxazole-5-yl)-benzenesulfonamide. This compound was found in freshly collected samples of biological fluids of both animal species. The structure of the metabolite was confirmed by the HPLC-MS/MS-method by comparison with the synthesized standard substance.

Keywords: biotransformation; metabolite identification; selective carbonic anhydrase II inhibitor; HPLC-MS/MS; N-hydroxysulfonamide

Abbreviations: OXSA – 4-(2-methyl-1,3-oxazole-5-yl)-benzenesulfonamide; HPLC-MS/MS – high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection; ESI – electrospray ionization; MRM – multiple reaction monitoring mode; MS2 – mode for obtaining the mass spectrum of a molecular ion; t_R – retention time; DMSO-D6 – deuterated dimethyl sulfoxide; DIPEA – diisopropylethylamine.

ВВЕДЕНИЕ

Селективные ингибиторы карбоангидразы II широко применяются для терапии открытоугольной глаукомы. Производное бензолсульфонамида – 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамид (OXSA) является новым представителем этой фармакологической группы (Рис. 1). Данное соединение по эффективности снижения внутриглазного давления и продолжительности действия на экспериментальных моделях превосходит ранее разработанные дорзоламид, бринзоламид и ацетазоламид [1–4]. Таким образом, дальнейшее изучение OXSA является перспективным.

Идентификация продуктов метаболизма является важной и обязательной частью доклинических исследований каждого лекарственного препарата¹. Количественное определение данных соединений в биологических средах необходимо для полного изучения фармакокинетики лекарственного средства, включая процесс его элиминации. Кроме того, найденные метаболиты могут обладать большей фармакологической активностью, чем исходное лекарственное вещество [5]. Известны два основных экспериментальных способа определения

¹ Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Том 1. – М.: Полиграф-плюс, 2012. – 944 с.

метаболитов. Первый способ – эксперимент с применением микросом *in vitro* [6–8], S9-фракций [9] или культур клеток гепатоцитов человека или животных [10–13]. Второй способ заключается во введении изучаемого препарата лабораторным животным с последующим забором биологического материала через определённые промежутки времени. В качестве подопытных при этом часто выступают грызуны: крысы [14–17] и мыши [18].

Наиболее универсальным аналитическим методом для идентификации метаболитов является ВЭЖХ-МС/МС. Для этих целей применяют гибридные масс-спектрометрические детекторы высокого разрешения на основе «Orbitrap» [7, 10, 15, 16] или времяпролётный анализатора [8, 9, 17] и различные типы ионных ловушек [6, 13, 18]. Также используют наиболее распространённые для фармакокинетических исследований трёхквadrupольные масс-спектрометры [11, 19, 20]. Идентификацию метаболитов при этом возможно проводить в MRM-режиме по прогнозируемым MRM-переходам: к значениям m/z молекулярного иона и ионов продуктов изучаемого лекарственного препарата прибавляют или вычитают величину m/z прогнозируемой модификации молекулы [19, 20]. Этот способ обеспечивает более высокую чувствительность по сравнению с панорамным сканированием спектра [21]. После предварительного масс-спектрометрического определения структуры проводится синтез предполагаемых метаболитов и подтверждающий анализ путём сопоставления времени удерживания аналитов, их масс-спектров, соотношения MRM-переходов и других параметров.

Процесс биотрансформации OXSA ранее не был изучен [1–4]. Широко применяемые селективные ингибиторы карбоангидразы II, дорзоламид и бринзоламид, метаболизируются путём деалкилирования. Так, дорзоламид подвержен N-деэтилированию [22], а бринзоламид – O-деметилированию и N-деэтилированию [23, 24]. Ранее разработанный ацетазоламид биотрансформации не подвергался [25]. Близкое по структуре производное арилсульфонамида, гидрохлортиазид, также элиминируется в неизменённом виде [26, 27]. Основными путями метаболизма сульфаниламидных противомикробных препаратов являются N-ацетилирование и N-гидроксилирование ароматической аминогруппы, а также метилирование и гидроксилирование заместителей сульфонамидной и аминогрупп [28, 29]. Известно также образование N-оксидов по ароматическим атомам азота [21]. Таким образом, в ходе метаболизма 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида возможно N-окисление 1,3-оксазольного атома азота и гидроксилирование метильной группы остатка 2-метил-1,3-оксазола. Примеров модификаций сульфонамидной группы в литературных данных не приведено.

ЦЕЛЬ. Идентификация метаболитов нового селективного ингибитора карбоангидразы II – 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биоаналитический анализ

Идентификацию продуктов биотрансформации проводили с помощью ВЭЖХ-МС/МС-системы, включающей в себя tandemный масс-спектрометрический детектор AB Sciex QTRAP5500 (AB Sciex, Сингапур) и хроматограф Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, США), состоящий из насоса G1312B, автосемплера G1329B с термостатом G1330B, термостата колонок G1316A (программное обеспечение «Analyst 1.6.2» (AB Sciex, США); обработка хроматограмм – «MultiQuant 3.0.5» (AB Sciex, США), прогнозирование метаболитов и создание MRM-методов идентификации метаболитов – «LightSight» 2.3 (AB Sciex, США).

Хроматографическое разделение готовых проб проводили на хроматографической колонке Poroshell 120EC-C18 (50×3,0 мм, 2,7 мкм) с предколонкой Zorbax Eclipse Plus C18 (12,5×2,1 мм, 5,0 мкм). Для градиентного элюирования (табл. 1) использовали подвижную фазу на основе 0,1% водного раствора муравьиной кислоты и метанола. Температура термостата колонок составила 40°C, скорость потока – 400 мкл/мин. Параметры масс-спектрометрического детектора приведены в таблице 2.

При подготовке проб к 50 мкл крови, плазмы или мочи добавляли 200 мкл метанола. Смесь перемешивали на шейкере и центрифугировали (Heraeus Multifuge X3R, Thermo Fisher Scientific, США) 5 мин при 10000 об/мин. Затем 1 мкл надосадочной жидкости вводили в ВЭЖХ-МС/МС систему.

В приведённых выше условиях соотношение «сигнал/шум» хроматографического пика OXSA на MRM-переходе 239→159 m/z (контрольный MRM-переход для оценки пригодности системы и контроля введения препарата) при концентрации 1 нг/мл в пробах плазмы, крови и мочи составило не менее 50:1.

Для приготовления модельных смесей к 47,5 мкл биологической жидкости добавляли 2,5 мкл метанольного раствора метаболитов в концентрациях 10 мкг/мл (для концентрации 500 нг/мл) и 200 мкг/мл (для концентрации N-гидроксиметаболита в плазме 10000 нг/мл при изучении стабильности).

Исследование на животных

Исследование биотрансформации 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида проводили на 3 крысах породы Wistar (279,67±30,44 г) и 3 кроликах (2,51±0,32 кг) породы Советская шиншилла, полученных из питомника ООО «СМК Стезар» (Россия). Суспензию OXSA однократно вводили внутрибрюшинным способом крысам в дозировке 20 мг/кг, кроликам – 1,6 мг/кг. Образцы крови отбирали до введения ЛС и через 1, 2, 4 и 24 ч после введения в объёме 0,2 мл в пробирки, содержащие K_3EDTA . Крысы были предварительно катетеризированы в правую яремную вену. У кроликов пробы отбирали из ушной вены с помощью инсулинового шприца (Beijing Fornurse Medical Equipment Co., Ltd, Китай).

После отбора 50 мкл образцы подвергали немедленной пробоподготовке и анализировали. Оставшуюся в пробирке кровь (≈ 150 мкл) центрифугировали в течение 10 мин при 2500 об/мин и температуре $+4^{\circ}\text{C}$ для получения плазмы. У крыс также отбирали пробы мочи (весь объём мочи крысы за указанный промежуток времени) с помощью метаболической клетки до введения (холостая проба) и в промежутки с момента введения до 4, с 4 до 8, с 8 до 24 ч. Мочу также немедленно обрабатывали и анализировали.

Таким образом, на первом этапе у каждого животного отбирали по 5 образцов плазмы и крови (4 экспериментальных и 1 контрольный), и по 4 образца мочи у крыс (3 экспериментальных и 1 контрольный). После синтеза N-гидроксиметаболита спустя 1 мес эксперимент повторяли для подтверждения структуры из-за его нестабильности в биологических пробах и проверки наличия нового возможного метаболита – производного сульфоновой кислоты. В результате в течение 2-х этапов было проанализировано по 30 образцов плазмы (включая 6 контрольных образцов) и по 30 образцов крови обоих видов животных (включая 6 контрольных образцов), а также 24 образца мочи крысы (включая 6 контрольных образцов), что достаточно для надёжной идентификации всех возможных продуктов биотрансформации.

Количественное определение концентрации ЛС и его метаболитов, а также расчёт их фармакокинетических параметров на данном этапе исследования не проводили. Поэтому число животных каждого вида было сокращено до 3 особей – ниже стандартного объёма выборки, исходя из гуманных соображений².

Исследование было одобрено Этическим комитетом ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический университет» им. К.Д. Ушинского (протокол № 1 от 10.06.2023).

Синтез метаболитов OXSA

После определения возможной структуры метаболита по изменениям MRM-переходов аналита синтезировали N-оксид и N-гидроксиметаболит 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида.

Для синтеза метаболитов были использованы следующие органические, неорганические реагенты и растворители: диизопропилэтиламин ($\geq 98\%$, «Sigma-Aldrich», Германия), ацетонитрил (х.ч., АО «Вектон», Российская Федерация), перекись водорода 50% (техн., ГК «Экрос», Российская Федерация), уксусная кислота ледяная (х.ч., АО «Вектон», Российская Федерация), гидроксилamina гидрохлорид ($\geq 99\%$, АО «Вектон», Российская Федерация). Данные реактивы применяли без дополнительной очистки.

Контроль над протеканием реакций осуществляли методом тонкослойной хроматографии на алюминиевых пластинах «SilufolUV» (10×20 см, Merck Millipore, Германия). На линию старта наносили по 5 мкл 0,5% раствора исходного

реагента в ацетоне и реакционной смеси. Пластинку высушивали и затем помещали в камеру. Разделение осуществляли с использованием в качестве элюента смеси этилацетат: петролейный эфир в соотношении 1:1 (об./об.). При достижении фронтом растворителя высоты 10 см, пластинку вынимали из камеры и высушивали на воздухе. Детектирование проводили при длине волны 254 нм. Реакцию вели до полного исчезновения в реакционной смеси пятна, соответствующего исходному реагенту.

Спектры ЯМР регистрировали на приборе «Varian UNITY Plus – 400» (Varian LLC, США) для растворов ДМСO-d₆ при 25°C . В качестве эталона для отсчёта химических сдвигов были выбраны сигналы остаточных протонов растворителя в ^1H -ЯМР (δ_{H} 2.50 м.д.) или ^{13}C -ЯМР (δ_{C} 39.5 м.д.). Обозначение формы сигналов: с – синглет, д – дублет, т – триплет, к – квартет, д. д – дублет дублетов, т. д – триплет дублетов, м – мультиплет. Температуру плавления определяли на аппарате для определения точки плавления и кипения «Büchi M-560» (Büchi Labortechnik AG, Швейцария). Масс-спектры высокого разрешения получали на масс-спектрометре «Bruker Daltonics MicrOTOF-II» (Bruker Daltonics GmbH, США) методом ионизации (ESI).

Статистическая обработка

Статистические расчёты были выполнены с помощью Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corporation, США). Аналитический сигнал в образцах животных и модельных смесях синтезированного образца сравнивали по времени удерживания (t_{R}), соотношению площадей пиков на основных MRM-переходах. При этом рассчитывали отношение средних арифметических данных параметров в испытуемых и стандартных пробах. Максимальное отклонение t_{R} синтезированной субстанции должно было находиться в пределах $\pm 1\%$ от t_{R} метаболита в пробах животных, максимальное отклонение в соотношении площадей пиков на MRM-переходах – в пределах $\pm 20\%$ от данного соотношения в пробах животных. Данные критерии установлены согласно требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации XV издания, применяемым при подтверждении подлинности ЛС методами ВЭЖХ и масс-спектрометрии ввиду отсутствия иных специальных требований к исследованиям биотрансформации^{3,4}. В качестве меры рассеяния полученных данных в таблицах приведено значение стандартного отклонения (SD). Также рассчитывали процент совпадения масс-спектров стандартного образца и метаболита, зарегистрированных в режиме MS2 («Analyst 1.6.2», AB Sciex, США).

³ Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. ОФС.1.2.1.2.0001 «Хроматография». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1/1-2-1-2-khromatograficheskie-metody-analiza/khromatografiya/>.

⁴ Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. ОФС.1.2.1.1.0008 «Масс-спектрометрия». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1/1-2-1-1-metody-spektralnogo-analiza/mass-spektrometriya/>.

² Там же.

Таблица 1 – Параметры градиентного элюирования метода для идентификации метаболитов ОХСА

Время, мин	А, %	Б, %
0,00	90	10
0,50	90	10
10,00	10	90
15,00	10	90
15,10	90	10
20,00	90	10

Примечание: А – 0,1% водный раствор муравьиной кислоты, Б – 0,1% водный раствор метанола.

Таблица 2 – Параметры масс-спектрометрического детектирования ОХСА и его метаболитов

Параметры	Значение
Способ ионизации	Электрораспылительная ионизация (ESI)
Напряжение электроспрея	+5500 В
Газовая завеса	30 psi (Азот)
CAD-газ (диссоциация, активированная соударением)	High (Азот)
Температура источника ионов	700°C
Газ 1 (Нагревающий газ)	55 psi (Воздух)
Газ 2 (Газ-небулайзер)	55 psi (Воздух)

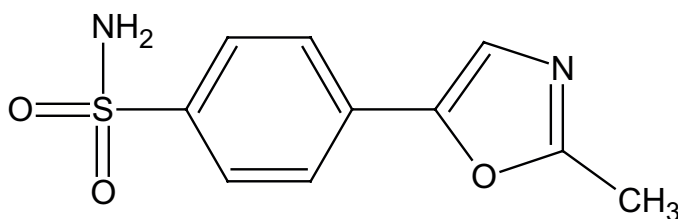


Рисунок 1 – Структурная формула 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида

■ +MS2 (239.00): 48 MCA scans from Sample 1 (TuneSampleID) of MT20180322092351.wiff (Turbo Spray)

Max. 1.5e8 cps.

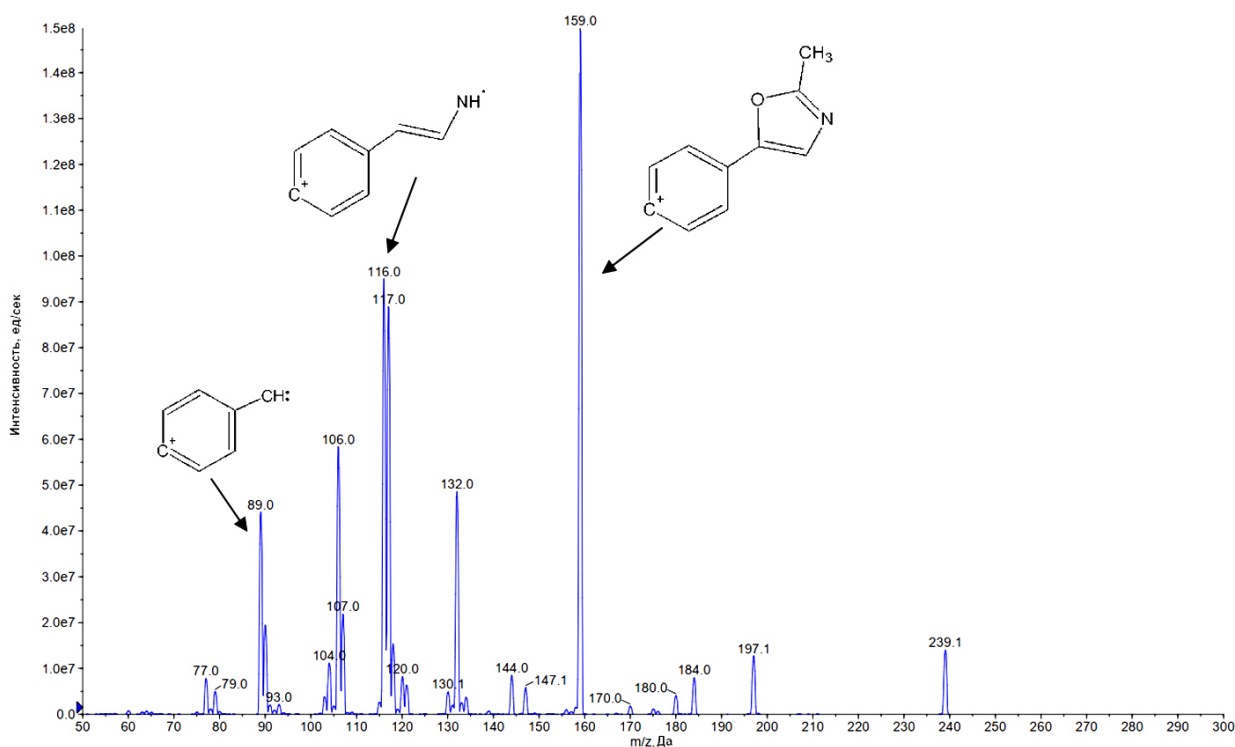


Рисунок 2 – Масс-спектр ОХСА (режим MS2; полярность положительная; CE=40eV)

Таблица 3 – MRM-переходы для идентификации возможных метаболитов

Модификация	Изменение m/z	Прогнозируемые MRM-переходы, m/z
Контрольный (OXSA)	–	239→159
Гидроксилирование / N-окисление (+OH/→O)	+16	255→159; 255→117; 255→89; 255→175; 255→133; 255→105
Метилирование (+CH ₃)	+14	253→159; 253→117; 253→89; 253→173; 253→131; 253→103
Гидроксилирование + N-окисление (+OH+→O)	+32	271→159; 271→117; 271→89; 271→175; 271→133; 271→105; 271→191; 271→149; 271→121
Глюкуроновая конъюгация*	+176	415→159; 415→117; 415→89
Ацетилирование*	+42	281→159; 281→117; 281→89
Сульфирование*	+80	319→159; 319→117; 319→89
Образование сульфоновой кислоты -SO ₂ NH ₂ →-SO ₃ **	+1	240→159; 240→117; 240→89

Примечание: * Различие m/z не прибавлялось к ионам продуктам из-за элиминирования сульфонамидной группы в процессе CAD-фрагментации. ** Анализ проводился только во время подтверждающих испытаний.

Таблица 4 – Результаты идентификации гидроксилированного / N-окисленного метаболита

Образцы	Временная точка	Время удерживания метаболита, мин (Me±SD) ⁵					
		255→159 m/z	255→117 m/z	255→89 m/z	255→175 m/z	255→133 m/z	255→105 m/z
Пробы крысы	Плазма	0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		1	7,20±0,01	7,21±0,01	7,20±0,01	N/A	N/A
		2	7,20±0,01	7,21±0,01	7,20±0,01	N/A	N/A
		4	7,20±0,01	7,21±0,01	7,21±0,01	N/A	N/A
		24	7,20±0,02	N/A *	N/A *	N/A	N/A
	Кровь	0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		1	7,18±0,01	7,19±0,01	7,19±0,01	N/A	N/A
		2	7,19±0,01	7,19±0,01	7,19±0,01	N/A	N/A
		4	7,20±0,01	7,19±0,01	7,19±0,01	N/A	N/A
		24	7,19±0,01	7,19±0,01	7,19±0,01	N/A	N/A
	Моча	0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		0–4	7,19±0,01	7,19±0,01	7,19±0,01	N/A	N/A
		4–8	7,20±0,01	7,19±0,01	7,20±0,01	N/A	N/A
		8–24	7,19±0,01	7,19±0,01	7,19±0,01	N/A	N/A
		24	7,19±0,01	7,19±0,01	7,19±0,01	N/A	N/A
Пробы кролика	Плазма	0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		1	7,21±0,02	7,21±0,02	7,20±0,01	N/A	N/A
		2	7,19±0,02	7,19±0,02	7,20±0,01	N/A	N/A
		4	7,20±0,01	7,20±0,01	7,21±0,01	N/A	N/A
		24	7,20±0,01	N/A *	N/A *	N/A	N/A
	Кровь	0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		1	7,20±0,01	7,19±0,01	7,19±0,01	N/A	N/A
		2	7,20±0,02	7,20±0,01	7,19±0,01	N/A	N/A
		4	7,19±0,01	7,19±0,01	7,19±0,01	N/A	N/A
		24	7,20±0,01	7,21±0,01	7,20±0,01	N/A	N/A
	Моча	0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		0–4	7,19±0,01	7,19±0,01	7,19±0,01	N/A	N/A
		4–8	7,20±0,01	7,19±0,01	7,20±0,01	N/A	N/A
		8–24	7,19±0,01	7,19±0,01	7,19±0,01	N/A	N/A
		24	7,19±0,01	7,19±0,01	7,19±0,01	N/A	N/A
N-оксид OXSA	Кровь	N/A	N/A	5,43±0,01	5,43±0,01	5,43±0,01	N/A
	Плазма	N/A	N/A	5,42±0,01	5,42±0,01	5,42±0,01	N/A
	Моча	N/A	N/A	5,43±0,01	5,43±0,01	5,43±0,01	N/A
N-гидрокси-OXSA	Кровь	7,20±0,01	7,20±0,01	7,20±0,01	N/A	N/A	N/A
	Плазма	7,20±0,01	7,20±0,01	7,20±0,01	N/A	N/A	N/A
	Моча	7,22±0,01	7,21±0,01	7,21±0,01	N/A	N/A	N/A

Примечание: N/A – не обнаружено. * Сигнал аналита отсутствовал из-за низкого содержания OXSA-M1.

⁵ В каждой ячейке таблицы приведено среднее значение t_R , полученное после анализа 3 проб в каждой временной точке.

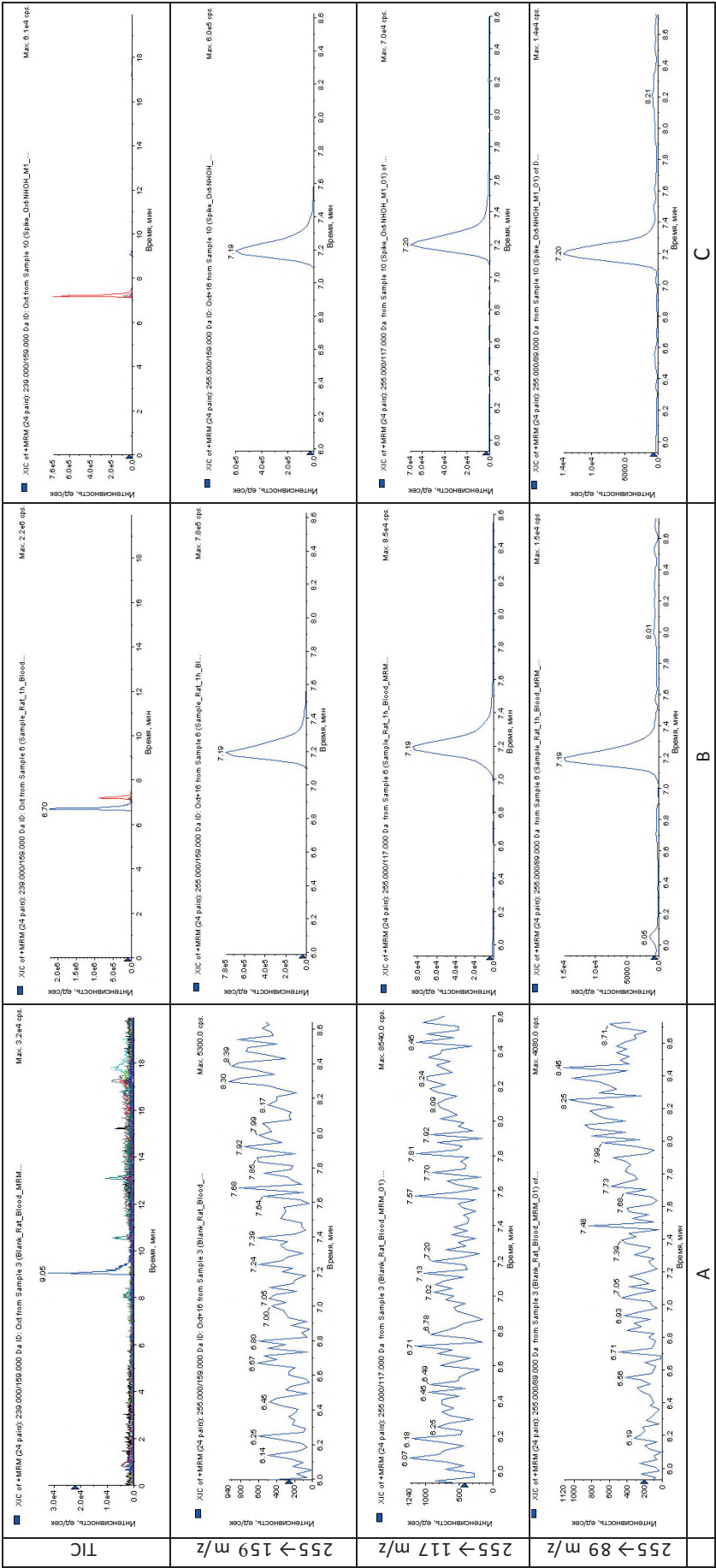


Рисунок 3 – Примеры хроматограмм холостого образца (А – кровь крысы), пробы крысы в точке 1 ч), проба крови с добавкой N-гидрокси-4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида (В – образец крови крысы с добавкой аналита с концентрацией 500 нг/мл)
Примечание: TIC – хроматограммы всех MRM-переходов (табл. 3).

Таблица 5 – MRM-переходы для идентификации возможных конъюгатов гидроксилированного метаболита

Модификация	Изменение m/z	Прогнозируемые MRM-переходы, m/z
Глюкуроновая конъюгация	+176	431→159; 431→117; 431→89; 431→335; 431→293; 431→265 m/z
Ацетилирование	+42	297→159; 297→117; 297→89; 297→201; 297→131
Сульфирование	+80	335→159; 335→117; 335→89; 335→239; 335→197; 335→169
Метилирование	+14	269→159; 269→117; 269→89; 269→173; 269→131; 269→103

Таблица 6 – Результаты подтверждения структуры основного метаболита OXSA

Параметр		t _R , мин (n=3)	Соотношение площадей пиков 255→117 / 255→159 m/z	Соотношение площадей пиков 255→89 / 255→159 m/z	Совпадение MS2- масс-спектров** (min–max, %)
Пробы плазмы крысы	Отобранные пробы в точках 1, 2, 4 ч (n=9)	7,16±0,01	0,1181±0,0090	0,0231±0,0015	89–95
	Пробы с добавкой (n=3)	7,15±0,01	0,1146±0,0109	0,0220±0,0016	
	% совпадения*	100,08	103,05	105,16	–
Пробы крови крысы	Отобранные пробы в точках 1, 2, 4 ч (n=9)	7,16±0,01	0,1287±0,0112	0,0224±0,0016	95–98
	Пробы с добавкой (n=3)	7,15±0,01	0,1260±0,0082	0,0231±0,0015	
	% совпадения*	100,12	102,14	97,06	–
Пробы мочи крысы	Отобранные пробы в интервалах 0–4, 4–8 ч (n=6)	7,15±0,01	0,1304±0,0146	0,0229±0,0015	91–95
	Пробы с добавкой (n=3)	7,16±0,01	0,1244±0,0081	0,0228±0,0015	
	% совпадения	99,88	104,81	100,51	–
Пробы плазмы кролика	Отобранные пробы в точках 1, 2, 4 ч (n=9)	7,16±0,01	0,1232±0,0116	0,0229±0,0015	90–93
	Пробы с добавкой (n=3)	7,16±0,01	0,1250±0,0145	0,0227±0,0017	
	% совпадения	100,09	98,53	100,54	–
Пробы крови кролика	Отобранные пробы в точках 1, 2, 4 ч (n=9)	7,16±0,01	0,1244±0,0105	0,0225±0,0012	93–97
	Пробы с добавкой (n=3)	7,15±0,02	0,1287±0,0119	0,0245±0,0012	
	% совпадения	99,80	96,65	91,75	–

Примечание: * Соотношение средних значений; ** Точки 1 ч и интервал 0–4 ч после введения (n=3).

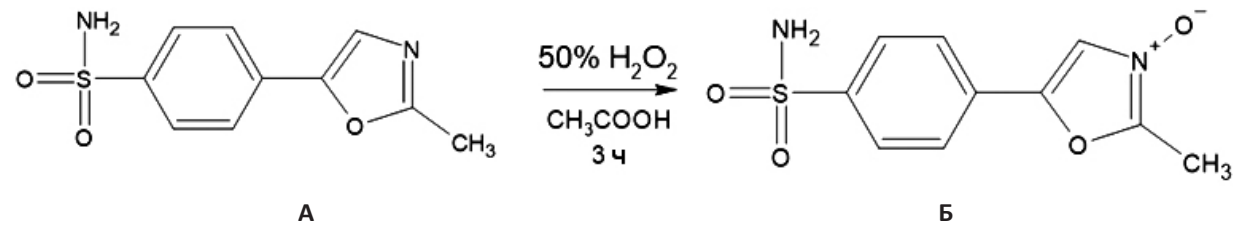
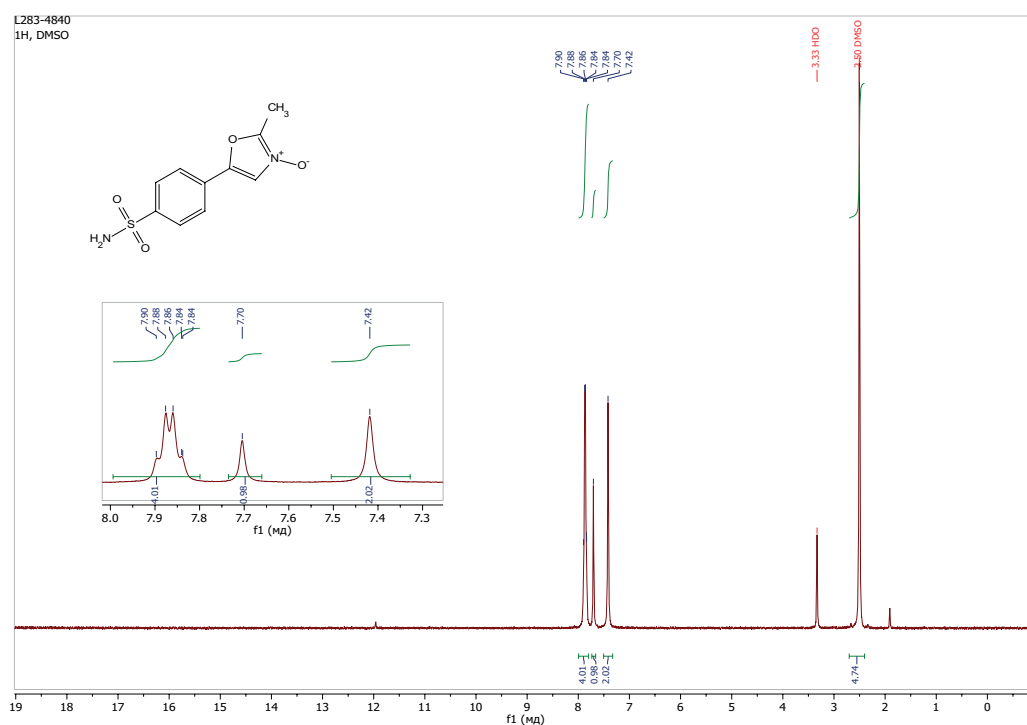
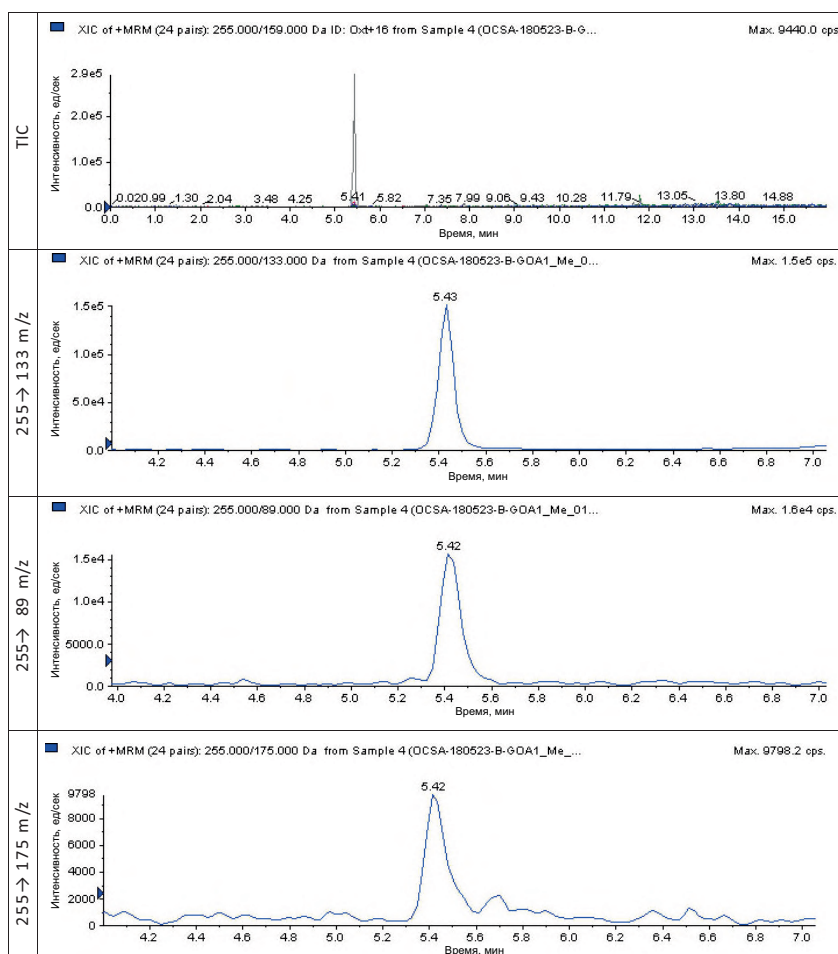


Рисунок 4 – Синтез N-оксида 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида (Б) с использованием 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида (А)

Рисунок 5 – ¹H-ЯМР-спектр N-оксида 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида в ДМСО-D₆Рисунок 6 – Пример MRM-хроматограммы N-оксида OXSA в образце крови с добавкой с концентрацией 500 нг/мл
Примечание: TIC – хроматограммы всех MRM-переходов (табл. 3).

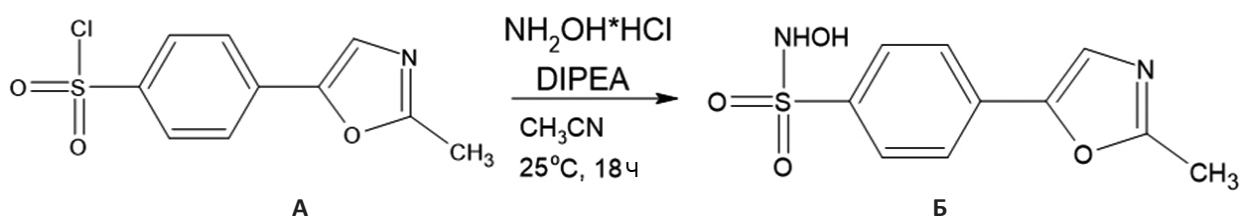


Рисунок 7 – Синтез N-гидрокси-4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида

Примечание: DIPEA – диизопропилэтиламин.

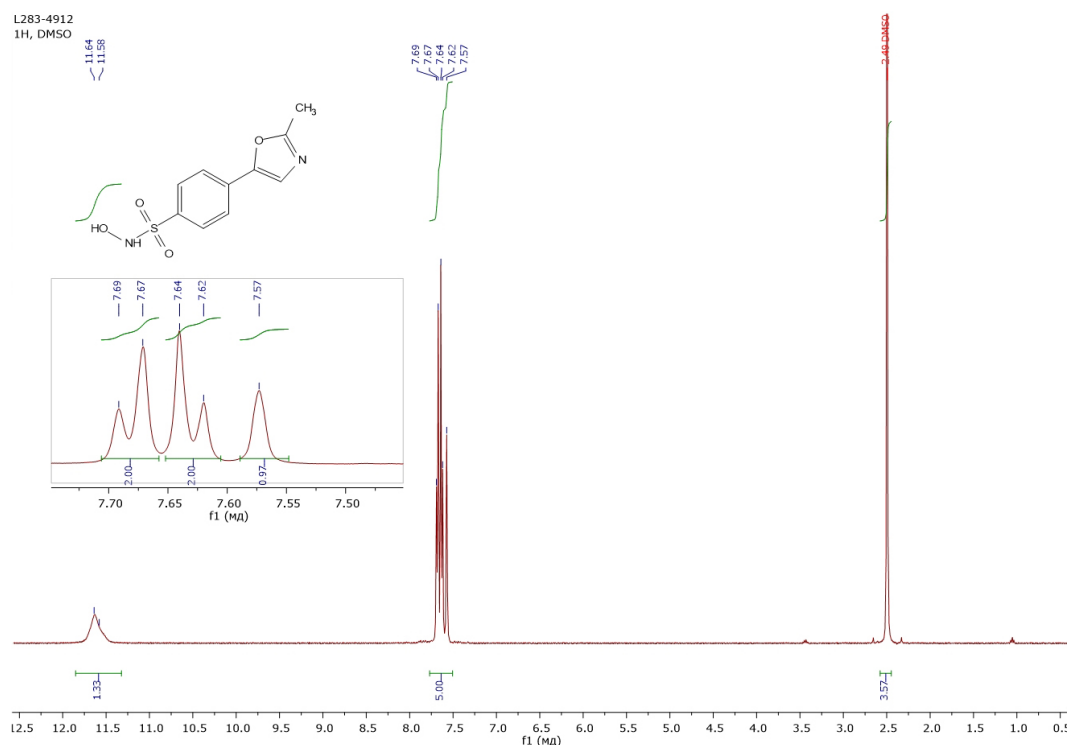
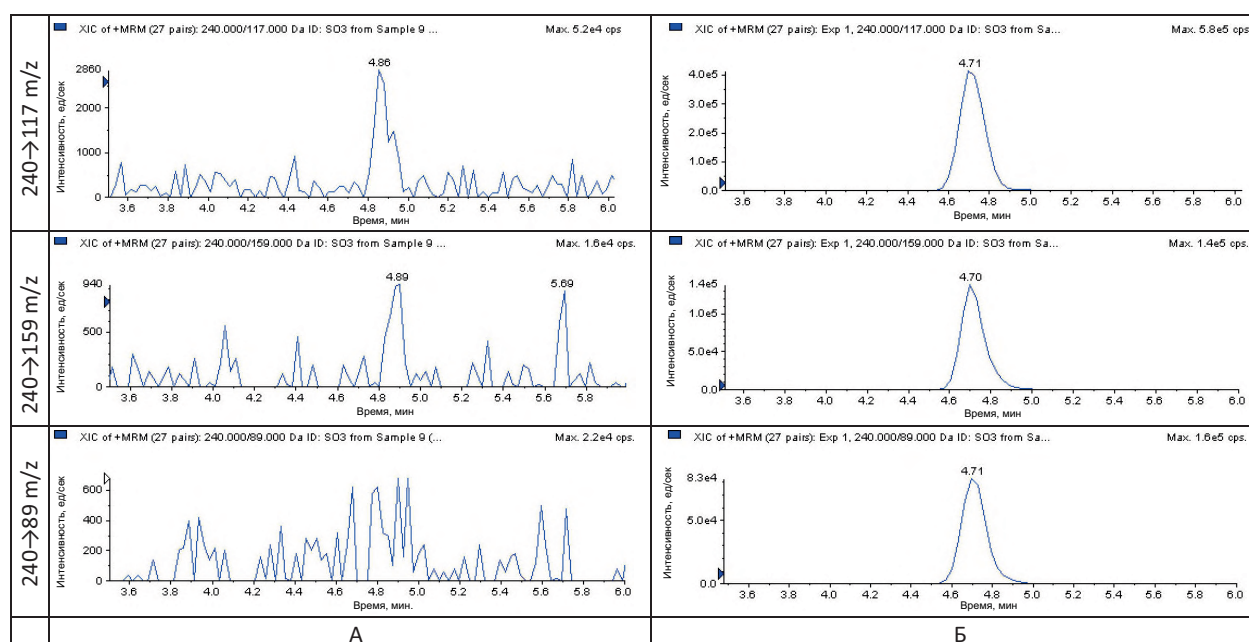
Рисунок 8 – ^1H -ЯМР-спектр N-гидрокси-4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида в $\text{DMSO}-\text{D}_6$ 

Рисунок 9 – Примеры хроматограмм пробы плазмы с добавкой метаболита после приготовления (А) и пробы плазмы с добавкой метаболита после 48 ч хранения при комнатной температуре (Б)

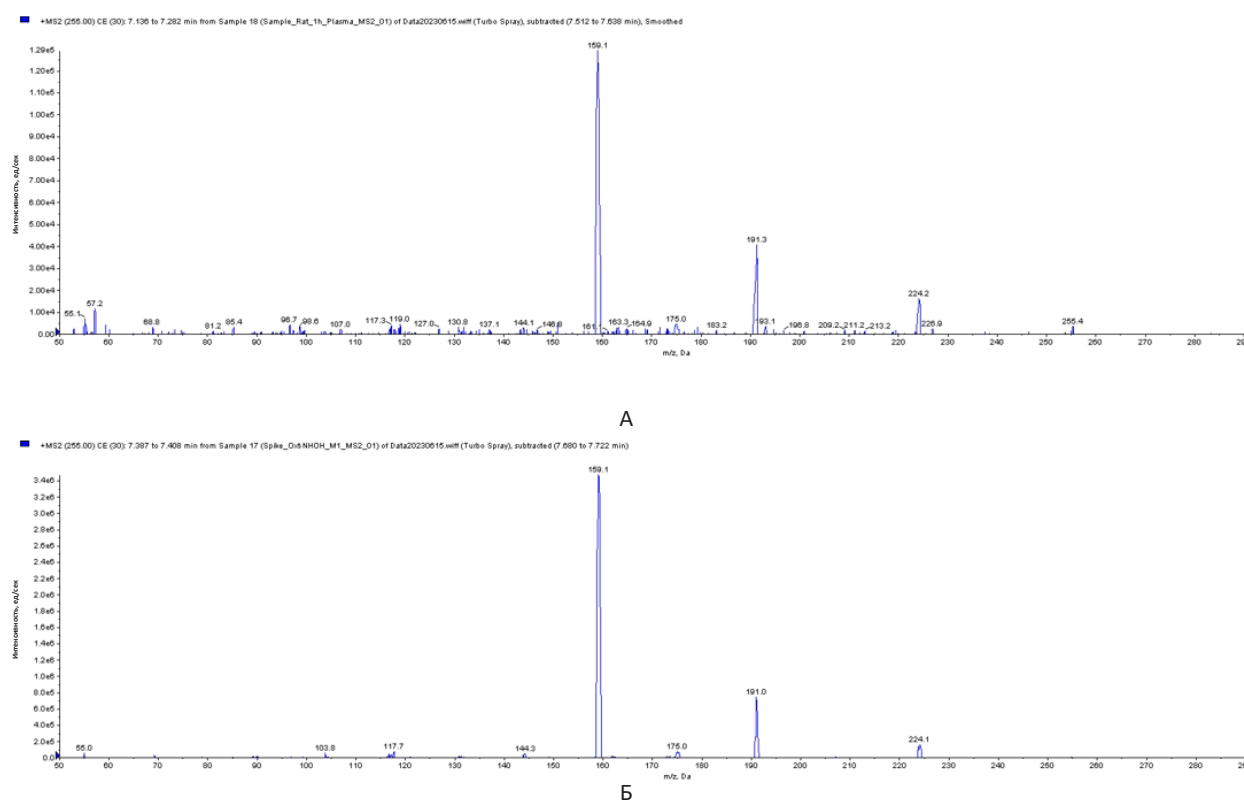


Рисунок 10 – Пример масс-спектров N-гидрокси-4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида в пробе плазмы крысы (точка 1 ч) (А) и в пробе с добавкой аналита с концентрацией 500 нг/мл (Б)

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На начальном этапе исследования был получен масс-спектр молекулярного иона (режим MS2) 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида 239 m/z (Рис. 2). Для создания скринингового MRM-метода были выбраны ионы-продукты 89, 117 и 159 m/z , которые обладали наибольшей интенсивностью сигнала и полностью отражали фрагменты структуры OXSA, к которым могли быть присоединены функциональные группы. При прогнозировании возможных метаболитов с помощью программы «LightSight» 2.3 было установлено возможное присоединение гидроксильной группы к метильному радикалу фрагмента 2-метил-1,3-оксазола, N-оксидация оксазольного атома азота, а также метилирование, ацетилирование и сульфирование сульфонамидной группы. Прирост m/z в случае возникновения каждой модификации добавляли к m/z молекулярного иона и выбранным значениям m/z ионов-продуктов OXSA (табл. 3). Также создавали MRM-переходы с неизменёнными значениями 89, 117, 159 m/z .

После анализа образцов на хроматограммах плазмы, крови и мочи были обнаружены хроматографические пики на MRM-переходах 255→159, 255→117, 255→89 m/z с $t_R=7,20$ мин (табл. 4), которые отсутствовали на хроматограммах холостых образцов данных объектов. Данные

сигналы с $\Delta m/z=16$ свидетельствовали о добавлении атома кислорода к молекуле и возможному гидроксированию или образованию N-оксида. Хроматографических пиков на MRM-переходах других модификаций идентифицировано не было (Рис. 3).

Увеличения m/z ионов-продуктов 159, 117, 89 на 16 m/z не наблюдали. Наиболее вероятно, обнаруженный метаболит может быть получен в результате N-окисления 1,3-оксазольного атома азота, а прироста m/z нет из-за разрушения слабой связи в результате CAD-фрагментации [19]. Также возможен процесс гидроксирования сульфонамидной группы, так как на выбранных MRM-переходах она элиминирована.

Ввиду возможного гидроксирования молекулы OXSA были создан дополнительный MRM-метод, который учитывал возможную конъюгацию данного метаболита (табл. 5). Готовые образцы были повторно проанализированы. Однако хроматографических пиков метаболитов, по сравнению с холостыми образцами на полученных хроматограммах, обнаружено не было.

В ходе исследования был осуществлен синтез возможных метаболитов OXSA. Первым был получен N-оксид OXSA (Рис. 4), так как примеров N-гидроксирования сульфонамидной группы лекарственных средств в результате биотрансформации ранее не было опубликовано.

Субстанцию 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида (0,20 г, 0,84 ммоль, 1 экв), полученного по методу [1], суспендировали в 5 мл ледяной уксусной кислоты. К смеси добавляли 50% водный раствор перекиси водорода (0,170 г, 2,25 ммоль, 3 экв) и перемешивали 3 ч при температуре 50°C. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, выпавший осадок фильтровали и промывали 1 мл ледяной уксусной кислоты. В ходе эксперимента получено 0,1 г (50 %) N-оксида OXSA, выделенного в виде белого твердого вещества. Температура плавления данной субстанции составила 227–228°C. Результаты подтверждения структуры (Рис. 5):

^1H -ЯМР-спектроскопия (400 МГц, DMCO-D_6) δ , м.д.: δ 7,87 (кв., $J=8,0$ Гц, 4H, Ar), 7,70 (с, 1H, Het), 7,42 (с, 2H, NH_2), 2,52 (с, 3H, CH_3).

^{13}C -ЯМР-спектроскопия (100 МГц, DMCO-D_6) δ , м.д.: 168,31, 143,82, 133,51, 128,56, 128,19, 127,91, 123,42, 10,63.

Масс-спектрометрия: величина m/z молекулярного иона $[\text{M}+\text{H}]^+$: 255,0431 m/z ; $\Delta m/z=-1,18$ ppm (вычислено для теоретического значения $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}^+$: 255,0434 m/z).

Для проверки соответствия полученного N-оксида 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида структуре метаболита OXSA были приготовлены модельные смеси в плазме, крови и моче в концентрации 500 нг/мл, затем проанализированы. Время удерживания, а также основные MRM-переходы полученного вещества, отличались от данных характеристик обнаруженного в биологических жидкостях соединения (табл. 4, Рис. 6). Его t_R составлял 5,43 мин, что на 1,8 мин меньше метаболита OXSA. Величина m/z ионов-продуктов N-оксида OXSA 175 и 133 m/z , содержащих оксазольный атом азота, выше на 16 Да величины ионов-продуктов препарата 159 и 117 m/z . Таким образом, изучаемый метаболит не являлся N-оксидом.

Далее был синтезирован N-гидрокси-4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамид с помощью реакции нуклеофильного замещения с участием гидроксилamina и 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонилхлорида (Рис. 7).

Исходный 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонилхлорид (Рис. 7) был получен по известной методике [1]. К охлажденному водному раствору гидроксилamina гидрохлорида (0,2 г в пересчёте на чистое вещество, 2,9 ммоль, 1,5 экв.) прибавили диизопропилэтиламин (DIPEA) (0,75 г, 5,82 ммоль, 3 экв.). Затем в смесь при охлаждении медленно вносили раствор 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонилхлорида (0,5 г, 1,64 ммоль, 1 экв.) в 2 мл ацетонитрила и перемешивали в течение 18 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавили охлажденной водой очищенной.

Выпавший осадок фильтровали, промывали водой очищенной. Было получено 0,29 г N-гидрокси-4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида в виде белого осадка с выходом 60%. Температура разложения данной субстанции составила 300°C. Результаты подтверждения структуры:

^1H -ЯМР-спектроскопия (400 МГц, DMCO-D_6) δ , м.д.: δ 11,61 (д, $J=23,5$ Гц, 2H, OH, NH), 7,68 (д, $J=8,1$ Гц, 2H, Ar), 7,63 (д, $J=8,2$ Гц, 2H, Ar), 7,57 (с, 1H, Het), 2,49 (с, 3H, CH_3) (Рис. 8).

^{13}C -ЯМР-спектроскопия (101 МГц, DMCO-D_6) δ , м.д.: 161,95, 150,74, 148,39, 128,18, 126,97, 123,80, 122,91, 14,31.

Масс-спектрометрия: величина m/z молекулярного иона $[\text{M}+\text{H}]^+$: 255,0433 m/z ; $\Delta m/z=0,39$ ppm (вычислено для теоретического значения $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}^+$: 255,0434 m/z).

Далее были приготовлены модельные смеси в плазме, крови и моче с добавлением N-гидроксипроизводного OXSA с концентрацией 500 нг/мл. Анализ данных образцов показал, что времена удерживания и основные MRM-переходы синтезированного и обнаруженного вещества совпадали (табл. 4, Рис. 3В). При повторном анализе отобранных ранее проб биологических жидкостей животных для подтверждающего испытания хроматографические пики метаболита не были обнаружены, что свидетельствовало о его разложении. При модификации MRM-метода в модельных смесях N-гидроксиметаболита OXSA с концентрацией 10000 нг/мл после 48 ч хранения при комнатной температуре были обнаружены хроматографические пики на MRM-переходах 240→159, 240→117, 240→89 m/z с увеличенным m/z молекулярного иона на 1 Да и временем удерживания 4,7 мин (Рис. 9). Данные сигналы после последующей оптимизации параметров масс-спектрометрического детектора также идентифицированы в старых пробах животных. Это позволяет предположить, что полученное соединение разлагается с образованием сульфоновой кислоты.

Для подтверждения структуры метаболита OXSA и проверки наличия в свежих пробах второго возможного метаболита – 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфоновой кислоты препарат был введён животным повторно спустя 1 месяц в описанных выше дозировках. Образцы отбирали через такие же промежутки времени. При этом дополнительно к времени удерживания метаболита оценивали соотношения площадей хроматографических пиков MRM-переходов 255→117 к 255→159 m/z и 255→89 к 255→159 m/z . Для сравнения с синтезированным стандартным образцом при этом не использовали поздние временные точки 24 ч для плазмы и крови, а также временной диапазон 8–24 ч для мочи ввиду низких концентраций метаболита. На полученных в результате анализа свежееотобранных

образцов хроматограммах пики на MRM-переходах 240→159, 240→117, 240→89 m/z в районе времени удерживания 4,7 мин не были обнаружены. Следовательно, либо содержание OXSA-сульфоновой кислоты в пробах было ниже предела обнаружения метода, либо данное соединение не образуется в организме в процессе метаболизма. Поэтому 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфоновая кислота не синтезировалась, и её структура не подтверждалась при сравнении со стандартным образцом.

Результаты сравнения времени удерживания, соотношения площадей хроматографических пиков на MRM-переходах N-гидроксиметаболита OXSA представлены в таблице 6. Отношения средних значений t_R между испытуемыми образцами и модельными смесями метаболита для крови, плазмы, мочи укладывались в допустимый диапазон 99,0–101,0%, а соотношения площадей пиков – 80,0–120,0%.

Дополнительно оценивали процент совпадения масс-спектров молекулярного иона 255 m/z, полученных в режиме MS2. Сравнение полученных данных проводили с помощью ПО «Analyst 1.6.2» в точке 1 ч для крови и плазмы и в периоде 0–4 ч для мочи. Масс-спектры в биологических образцах совпадали с масс-спектрами в стандартных модельных смесях, как минимум на 89%, что подтверждало структуру метаболита. Примеры MS2-масс-спектров аналита в обработанных образцах плазмы представлены на рисунке 10.

Таким образом, идентифицированный метаболит является N-гидроксипроизводным OXSA по сульфонамидной группе. Ранее аналогичных примеров биотрансформации лекарственных препаратов, содержащих данную функциональную группу, в научных публикациях нами не обнаружено [25–29]. Это может быть связано с химическим разложением этих соединений в биологических жидкостях в процессе хранения до сульфокислот. При проведении фармакокинетических исследований для точного количественного определения метаболита OXSA может потребоваться добавление стабилизаторов к пробам сразу после отбора для предотвращения его деградации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что изучаемый препарат метаболизируется с образованием основного метаболита N-гидрокси-4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида. Данное соединение идентифицировано в плазме, крови и моче лабораторных животных. Структура метаболита подтверждена путем сравнения времени удерживания, соотношения площадей хроматографических пиков на основных MRM-переходах, а также масс-спектров с его синтезированным стандартным образцом. В дальнейшем будет проведено полное фармакокинетическое исследование препарата с применением синтезированной субстанции идентифицированного вещества, а также изучена его фармакологическая активность.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование биотрансформации (биоаналитическая часть и эксперимент на животных) выполнена за счёт средств государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации «Разработка лекарственного препарата для лечения остроугольной глаукомы» (№ 1022051100011-8-3.1.5;3.2.17).

Синтез лекарственного вещества и его метаболитов выполнен за счет гранта Министерства просвещения Российской Федерации «Разработка инновационного лекарственного средства для лечения открытоугольной глаукомы путем селективного ингибирования карбоангидразы II» № 073-00077-21-02 (реестровая запись № 730000Ф.99.1.БВ10АА00006).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

А.Л. Хохлов – формулировка ключевой цели и задач; И.И. Яичков – разработка концепции, дизайна исследования биотрансформации, биоаналитического метода, анализ образцов крови, плазмы и мочи, интерпретация результатов исследования, написание и оформление текста статьи; А.А. Шетнев – разработка технологии синтеза лекарственного средства и его метаболитов, написание статьи (раздел, посвящённый синтезу), анализ и интерпретация полученных данных; С.А. Ивановский – фармацевтический анализ и описание структуры лекарственного средства и его метаболитов; М.К. Корсаков – формулировка ключевой цели и задач, разработка технологии синтеза лекарственного средства и его метаболитов, анализ и интерпретация полученных данных; О.А. Гасилина – синтез лекарственного средства и его метаболитов; Н.Н. Вольхин – забор образцов крови, плазмы и мочи; С.С. Петухов – анализ крови, забор образцов плазмы и мочи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ефимова Ю.А., Шетнев А.А., Гасилина О.А., Корсаков М.К. Эффективный путь синтеза 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)-бензолсульфонамида – перспективного противоглаукомного агента нового поколения // Бутлеровские сообщения. – 2022. – Т. 72, № 12. – С. 15–20. DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/22-72-12-15
2. Ивановский С.А., Веселова В.Н., Шетнев А.А., Корсаков М.К. Разработка и валидация методики количественного определения 4-(2-метил-1,3-оксазол-5-ил)бензолсульфонамида – лекарственного кандидата для лечения глаукомы // Бутлеровские сообщения. – 2022. – Т. 72, № 12. – С. 139–146. DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/22-72-12-139
3. Ferraroni M., Luccarini L., Masini E., Korsakov M., Scozzafava A., Supuran C.T., Krasavin M. 1,3-Oxazole-based selective picomolar inhibitors of cytosolic human carbonic anhydrase II alleviate ocular hypertension in rabbits: Potency is supported by X-ray crystallography of two leads // Bioorg Med Chem. – 2017. – Vol. 25, No. 17. – P. 4560–4565. DOI: 10.1016/j.bmc.2017.06.054
4. Krasavin M., Korsakov M., Dorogov M., Tuccinardi T., Dedeoglu N., Supuran C.T. Probing the 'bipolar' nature of the carbonic anhydrase active site: aromatic sulfonamides containing 1,3-oxazol-5-yl moiety as picomolar inhibitors of cytosolic CA I and CA II isoforms // Eur J Med Chem. – 2015. – Vol. 101. – P. 334–347. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.06.022
5. Аладышева Ж.И., Беляев В.В., Береговых В.В., Бркич Г.Э., Грейбо С.В., Демина Н.Б., Джурко Ю.А., Ивановский С.А., Николенко Н.С., Комиссарова В.А., Корсаков М.К., Лаврентьева Л.И., Мешковский А.П., Мирошников А.Е., Онегин С.В., Парфенов А.А., Поздняков Н.О., Поройков В.В., Пятигорская Н.В., Пятигорский А.М., Раков А.А., Сидоров А.В., Спицкий О.Р., Трубников А.А., Хохлов А.А., Хохлов А.Л., Чикина И.В., Шабалина М.М., Шабров В.Н., Шитов Л.Н., Яичков И.И. Промышленная фармация. Путь создания продукта: монография / под ред. А.Л. Хохлова, Н.В. Пятигорской. – М.: РАН, 2019. – 394 с.
6. Alsibae A.M., Aljohar H.I., Attwa M.W., Abdelhameed A.S., Kadi A.A. Investigation of fenebrutinib metabolism and bioactivation using MS3 methodology in ion trap LC/MS // Molecules. – 2023. – Vol. 28. – Art. ID: 4225. DOI: 10.3390/molecules28104225
7. Geburek I., Schrenk D., These A. In vitro biotransformation of pyrrolizidine alkaloids in different species: part II—identification and quantitative assessment of the metabolite profile of six structurally different pyrrolizidine alkaloids // Arch Toxicol. – 2020. – Vol. 94, No. 11. – P. 3759–3774. DOI: 10.1007/s00204-020-02853-9
8. Trawinski J., Wronski M., Gawlik M., Skibinski R. Identification of the new metabolite of nebiivolol using liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry and chemometrics // Molecules. – 2022. – Vol. 27, No. 3. – Art. ID: 763. DOI: 10.3390/molecules27030763
9. Peeters L., Vervliet P., Foubert K., Hermans N., Pieters L., Covaci A. A comparative study on the in vitro biotransformation of medicagenic acid using human liver microsomes and S9 fractions // Chemico-Biological Interactions. – 2020. – Vol. 328. – Art. ID: 109192. DOI: 10.1016/j.cbi.2020.109192
10. Boyce M., Favela K.A., Bonzo J.A., Chao A., Lizarraga L.E., Moody L.R., Owens E.O., Patlewicz G., Shah I., Sobus J.R., Thomas R.S., Williams A.J., Yau A., Wambaugh J.F. Identifying xenobiotic metabolites with in silico prediction tools and LCMS suspect screening analysis // Front Toxicol. – 2023. – Vol. 5. – Art. ID: 1051483. DOI: 10.3389/ftox.2023.1051483
11. Chen W.H., Chiu C.H., Farn S.S., Cheng K.H., Huang Y.R., Lee S.Y., Fang Y.C., Lin Y.H., Chang K.W. Identification of the hepatic metabolites of flumazenil and their kinetic application in neuroimaging // Pharmaceuticals. – 2023. – Vol. 16. – Art. ID: 764. DOI: 10.3390/ph16050764
12. Walczak M., Suraj-Prażmowska J., Kuś K., Kij A., Groszek G. A preliminary metabolites identification of a novel compound with β -adrenolytic activity // Pharmacol Rep. – 2021. – Vol. 73, No. 5. – P. 1373–1389. DOI: 10.1007/s43440-021-00273-9
13. Al-Shakliah N.S., Attwa M.W., Alrabiah H., Kadi A.A. Identification and Characterization of In vitro, In vivo and Reactive Metabolites of Tandutinib using Liquid Chromatography Ion Trap Mass Spectrometry // Analytical Methods. – 2021. – Vol. 13, No. 3. – P. 399–410. DOI: 10.1039/d0ay02106g
14. Belinskaia D.A., Savelieva E.I., Karakashev G.V., Orlova O.I., Leninskii M.A., Khlebnikova N.S., Shestakova N.N., Kiskina A.R. Investigation of bemethyl biotransformation pathways by combination of LC–MS/HRMS and in silico methods // Int J Mol Sci. – 2021. – Vol. 22. – Art. ID: 9021. DOI: 10.3390/ijms22169021
15. Levina I.S., Nazarov A.K., Nazarov G.V., Kulikova L.E., Kuznetsov Y.V., Dmitrenok A.S., Minin D.V., Aksenov A.V., Zavarzin I.V. In vivo study on biotransformation of pentacyclic analogs of progesterone: Identification of their metabolites by HPLC-MS method // J Steroid Biochem Mol Biol. – 2019. – Vol. 194. – Art. ID: 105436. DOI: 10.1016/j.jsmb.2019.105436
16. Sun Z., Yang J., Liu L., Xu Y., Zhou L., Jia Q., Shi Y., Du X., Kang J., Zuo L. Pharmacokinetics and metabolite profiling of trepibutone in rats using ultra-high performance liquid chromatography combined with hybrid quadrupole-orbitrap and triple quadrupole mass spectrometers // Front Pharmacol. – 2019. – Vol. 10. – Art. ID: 1266. DOI: 10.3389/fphar.2019.01266
17. Zhu C., Wan M., Cheng H., Wang H., Zhu M., Wu C. Rapid detection and structural characterization of verapamil metabolites in rats by UPLC-MSE and UNIFI platform // Biomed Chromatogr. – 2020. – Vol. 34. – Art. ID: e4702. DOI: 10.1002/bmc.4702
18. Lee K., Lee J.Y., Lee K., Jung C.-R., Kim M.J., Kim J.A., Yoo D.G., Shin E.J., Oh S.J. Metabolite profiling and characterization of LW6, a novel HIF-1 α inhibitor, as an antitumor drug candidate in mice // Molecules. – 2021. – Vol. 26. – Art. ID: 1951. DOI: 10.3390/molecules26071951
19. Reddy G.N., Laltanpuui C., Sonti R. Review on in vivo profiling of drug metabolites with LC-MS/MS in the past decade // Bioanalysis. – 2021. – Vol. 13, No. 22. – P. 1697–1722. DOI: 10.4155/bio-2021-0144
20. Alseekh S., Aharoni A., Brotman Y., Contrepois K., D'Auria J., Ewald J., C Ewald J., Fraser P.D., Giavalisco P., Hall R.D., Heinemann M., Link H., Luo J., Neumann S., Nielsen J., Perez de Souza L., Saito K., Sauer U., Schroeder F.C., Schuster S., Siuzdak G., Skirycz A., Sumner L.W., Snyder M.P., Tang H., Tohge T., Wang Y,

- Wen W., Wu S., Xu G., Zamboni N., Fernie A.R. Mass spectrometry-based metabolomics: a guide for annotation, quantification and best reporting practices // *Nature Methods*. – 2021. – Vol. 18, No. 7. – P. 747–756. DOI: 10.1038/s41592-021-01197-1
21. Хохлов А.Л., Рыска М., Кукес В.Г., Писачкова М., Печена М., Яворский А.Н., Шитов Л.Н., Джурко Ю.А., Ромодановский Д.П., Шитова А.М., Корсаков М.К., Лилеева Е.Г., Хохлов А.А., Поздняков Н.О., Мирошников А.Е., Воронина Е.А., Рыбачкова Ю.В., Яичков И.И. Современные подходы к проведению биоаналитических исследований при создании лекарственных препаратов: монография / под ред. А.Л. Хохлова. – М.: РАН, 2018. – 243 с.
22. Lo Faro A.F., Tini A., Gottardi M., Pirani F., Sirignano A., Giorgetti R., Busard F.P. Development and validation of a fast ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method for determining carbonic anhydrase inhibitors and their metabolites in urine and hair // *Drug Test Anal.* – 2021. – Vol. 13, No. 8. – P. 1552–1560. DOI: 10.1002/dta.3055
23. Dhandar A.G., Chaudhari S.R., Ganorkar S.B., Patil A.S., Surana S.J. Mini-Review on bioanalytical estimation of brinzolamide // *Curr Pharmaceut Analysis*. – 2022. – Vol. 8, No. 3. – P. 265–272. DOI: 10.2174/1573412917666210812103414
24. Mandour A., Nabil N., Zaaza H.E., Abdelkawy M. Review on analytical studies of some pharmaceutical compounds containing heterocyclic rings: brinzolamide, timolol maleate, flumethasone pivalate, and clioquinol // *Future J Pharmaceut Sci.* – 2020. – Vol.6. – Art. ID: 52. DOI: 10.1186/s43094-020-00068-4
25. Begou O., Drabert K., Theodoridis G., Tsikas D. GC-NICI-MS analysis of acetazolamide and other sulfonamide (R-SO₂-NH₂) drugs as pentafluorobenzyl derivatives [R-SO₂-N(PFB)₂] and quantification of pharmacological acetazolamide in human urine // *J Pharm Anal.* – 2020. – Vol. 10, No. 1. – P. 49–59. DOI: 10.1016/j.jpha.2019.11.006
26. Карнакова П.К., Комаров Т.Н., Арчакова О.А., Щелгачева Д.С., Алешина А.В., Багаева Н.С., Карпова П.А., Шохин И.Е. Совместное определение кандесартана и гидрохлоротиазида в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. – 2021. – Т. 10, № 4. – С. 177–189. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-177-189
27. Haque A., Iqbal M., Alamoudi M.K., Alam P. A Selective and accurate LC-MS/MS method for simultaneous quantification of valsartan and hydrochlorothiazide in human plasma // *Separations*. – 2023. – Vol. 10. – Art. ID: 119. DOI: 10.3390/separations10020119
28. Ma Y., Modrzynski J.J., Yang Y., Aamand J., Zheng Y. Redox-dependent biotransformation of sulfonamide antibiotics exceeds sorption and mineralization: Evidence from incubation of sediments from a reclaimed water-affected river // *Water Res.* – 2021. – Vol. 205. – Art. ID: 117616. DOI: 10.1016/j.watres.2021.117616
29. Vree T.B., Hekster Y.A., Tijhuis M.W. Metabolism of sulfonamides // *Antibiotics and Chemotherapy. Pharmacokinetics of Sulfonamides Revisited*. – 1985. – Vol. 34. – P. 5–65. DOI: 10.1159/000410271

АВТОРЫ

Хохлов Александр Леонидович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии, ректор ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-0032-0341. E-mail: al460935@yandex.ru

Яичков Илья Игоревич – кандидат фармацевтических наук, научный сотрудник отдела аналитической разработки и контроля качества Центра трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова, ФГБОУ ВО ЯГПУ им. К.Д. Ушинского; научный сотрудник Института фармации ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-0066-7388. E-mail: i.yaichkov@yspu.org

Шетнев Антон Андреевич – кандидат химических наук, руководитель отдела фармацевтической разработки Центра трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова, ФГБОУ ВО ЯГПУ им. К.Д. Ушинского. ORCID ID: 0000-0002-4389-461X. E-mail: a.shetnev@list.ru

Сергей Александрович Ивановский – кандидат химических наук, руководитель отдела аналитической разработки и контроля качества Центра трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова, ФГБОУ ВО ЯГПУ им. К.Д. Ушинского. ORCID ID: 0000-0002-1421-9236. E-mail: main_engine@mail.ru

Корсаков Михаил Константинович – доктор химических наук, профессор кафедры химии, теории и методики преподавания химии, директор Центра трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова, ФГБОУ ВО ЯГПУ им. К.Д. Ушинского. ORCID ID: 0000-0003-0913-2571. E-mail: m.korsakov@yspu.org

Ольга Андреевна Гасилина – инженер отдела фармацевтической разработки Центра трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова, ФГБОУ ВО ЯГПУ им. К.Д. Ушинского. К.Д. ORCID ID: 0000-0001-9701-9207. E-mail: olgagasilina23@yandex.ru

Вольхин Никита Николаевич – младший научный сотрудник отдела фармакологических исследований Центра трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова, ФГБОУ ВО ЯГПУ им. К.Д. Ушинского. ORCID ID: 0000-0002-4275-9037. E-mail: nnvolkhin@ysmu.ru

Петухов Сергей Станиславович – инженер отдела фармакологических исследований Центра трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова, ФГБОУ ВО ЯГПУ им. К.Д. Ушинского; младший научный сотрудник Института фармации ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0009-0007-8435-7689. E-mail: sspp465@mail.ru

УДК 615.03:615.72



Российская разработка для лекарственной независимости в эндокринологии: сравнительный анализ биоэквивалентности, безопасности и переносимости первого отечественного лираглутида

А.С. Аметов¹, И.Е. Шохин², Е.А. Рогожина³, Т.Г. Бодрова⁴, М.Е. Невретдинова⁵,
П.А. Белый⁴, К.Я. Заславская⁶, Д.В. Куркин⁴, К.Н. Корянова⁷, Е.С. Мищенко⁷, С.М. Носков^{8,9}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125993, Россия, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1

² Общество с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА»), 117638, Россия, г. Москва, Симферопольский бульвар, д. 8

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет», 119454, Россия, г. Москва, пр-кт Вернадского, д. 78

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127006, Россия, г. Москва, ул. Долгоруковская, д. 4

⁵ Общество с ограниченной ответственностью «Практика здоровья», 117624, Россия, г. Москва, ул. Скобелевская, д. 1

⁶ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарёва» 430005, Россия, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68

⁷ Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 357532, Россия, г. Пятигорск, пр-кт Калинина, д. 11

⁸ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 150000, Россия, г. Ярославль, ул. Революционная, д. 5

⁹ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Ярославской области «Клиническая больница № 3», 150007, Россия, г. Ярославль, ул. Маяковского, д. 61

E-mail: kiryonok@yandex.ru

Получена 15.07.2023

После рецензирования 20.08.2023

Принята к печати 25.08.2023

Лираглутид является одним из аналогов инкретинного гормона человеческого глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1) и в настоящее время является приоритетным средством для лечения таких заболеваний, как сахарный диабет 2-го типа (в моно- и комбинированной терапии), ожирение и избыточная масса тела при наличии хотя бы одного сопутствующего заболевания.

Цель. Оценить биоэквивалентность и сопоставимость профиля безопасности и переносимости лекарственного препарата Энлигрия® (лираглутид 6 мг/мл, ООО «Промомед РУС», Россия) и лекарственного препарата Саксенда® (лираглутид 6 мг/мл, Ново Нордиск А/С, Дания) при однократном применении здоровыми добровольцами.

Для цитирования: А.С. Аметов, И.Е. Шохин, Е.А. Рогожина, Т.Г. Бодрова, М.Е. Невретдинова, П.А. Белый, К.Я. Заславская, Д.В. Куркин, К.Н. Корянова, Е.С. Мищенко, С.М. Носков. Российская разработка для лекарственной независимости в эндокринологии: сравнительный анализ биоэквивалентности, безопасности и переносимости первого отечественного лираглутида. *Фармация и фармакология*. 2023;11(3): 255-276. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-3-255-276

© А.С. Аметов, И.Е. Шохин, Е.А. Рогожина, Т.Г. Бодрова, М.Е. Невретдинова, П.А. Белый, К.Я. Заславская, Д.В. Куркин, К.Н. Корянова, Е.С. Мищенко, С.М. Носков, 2023

For citation: A.S. Ametov, I.E. Shokhin, E.A. Rogozhina, T.G. Bodrova, M.E. Nevretdinova, P.A. Bely, K.Ya. Zaslavskaya, D.V. Kurkin, K.N. Koryanova, E.S. Mishchenko, S.M. Noskov. Russian development for drug independence in endocrinology: comparative analysis of bioequivalence, safety and tolerability of the first domestic liraglutide. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(3):255-276. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-3-255-276

Материалы и методы. Данное исследование представляло собой открытое рандомизированное перекрестное сравнительное исследование по оценке фармакокинетических параметров, безопасности, переносимости и иммуногенности. В исследование были включены 26 здоровых добровольцев, из них в популяцию для оценки биоэквивалентности вошли все 26 участников. Оно включало 2 периода, в каждом из которых добровольцы получали либо исследуемый препарат (лираглутид в дозе 0,6 мг), либо референтный препарат (лираглутид в дозе 0,6 мг) однократно. Отмывочный период между каждым из приемов составлял 7 сут. Отбор образцов плазмы крови для определения концентрации лираглутида производили в диапазоне от 0 до 72 ч в каждом из периодов исследования. Концентрацию лираглутида определяли с помощью предварительно валидированного метода иммуноферментного анализа (ИФА). Количественное определение антител к лираглутиду в образцах сыворотки крови проводили с помощью фотометра для микропланшетов с использованием готовых предварительно валидированных производителем ИФА-наборов. Вывод об эквивалентности сравниваемых препаратов делали по отношению параметров C_{max} , AUC_{0-t} и $AUC_{0-\infty}$ исследуемого лекарственного препарата по отношению к референтному.

Результаты. Фармакокинетические параметры препаратов были сопоставимы между собой. Полученные 90%-ные доверительные интервалы для отношения значений C_{max} , AUC_{0-t} и $AUC_{0-\infty}$ исследуемого российского и референтного препарата составили 87,18–110,46, 84,40–104,11 и 86,69–103,22% соответственно, что удовлетворяло критериям оценки биоэквивалентности. Переносимость препаратов у добровольцев была отмечена как хорошая. Частота нежелательных явлений была сопоставима для исследуемого и референтного препаратов. В течение всего исследования не было зарегистрировано ни одного серьезного нежелательного явления. По результатам анализа иммуногенности у добровольцев не были выявлены антитела к лираглутиду российского производства в сыворотке крови, что свидетельствовало об отсутствии иммуногенности препарата.

Заключение. В ходе проведенного исследования была подтверждена фармакокинетическая эквивалентность исследуемого и референтного препаратов. Был продемонстрирован высокий профиль безопасности и отсутствие иммуногенности у российского препарата Энлигрия® (лираглутид 6 мг/мл, ООО «Промомед РУС», Россия) в сравнении с зарубежным препаратом Саксенда® (лираглутид 6 мг/мл, Ново Нордиск А/С, Дания).

Ключевые слова: глюкагоноподобный пептид-1; биоэквивалентность; фармакокинетика; лираглутид; ожирение; сахарный диабет 2 типа; Энлигрия

Список сокращений: СД 2 – сахарный диабет 2 типа; ГПП-1 – глюкагоноподобный пептид-1; ГИП – глюкозозависимый инсулиотропный полипептид; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; АССЗ – атеросклеротические сердечно-сосудистые заболевания; HbA1c – гликированный гемоглобин; ИФА – иммуноферментный анализ; ИМТ – индекс массы тела; ДПП-4 – дипептидилпептидаза-4; АФС – активная фармацевтическая субстанция; ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота; РНК – рибонуклеиновая кислота; ЖКТ – желудочно-кишечный тракт; ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция; ПЦР – полимеразная цепная реакция; БАД – биологически активная добавка; АД – артериальное давление; ЧСС – частота сердечных сокращений; ЧДД – частота дыхательных движений; ЭКГ – электрокардиография; ХС ЛПНП – холестерин липопротеидов низкой плотности; ЛПВП ХС – холестерин липопротеидов высокой плотности; НЯ – нежелательное явление; СНЯ – серьезное нежелательное явление; ДИ – доверительный интервал; ПОМК – проопиомеланокортин, КАПТ – кокаин-амфетамин-регулируемый транскрипт; НПУ – нейропептид Y; АПБ – агутиподобный белок; ГАМК – гамма-аминомасляная кислота, ХСН – хроническая сердечная недостаточность; ХБП – хроническая болезнь почек.

Russian development for drug independence in endocrinology: comparative analysis of bioequivalence, safety and tolerability of the first domestic liraglutide

A.S. Ametov¹, I.E. Shokhin², E.A. Rogozhina³, T.G. Bodrova⁴, M.E. Nevretdinova⁵,
P.A. Bely⁴, K.Ya. Zaslavskaya⁶, D.V. Kurkin⁴, K.N. Koryanova⁷, E.S. Mishchenko⁷, S.M. Noskov^{8,9}

¹ Russian Medical Academy of Continuing Professional Education,
Bld. 1, 2/1, Barrikadnaya Str., Moscow, Russia, 125993

² Limited Liability Company "Center for Pharmaceutical Analytics",
8, Simferopolsky Blvd, Moscow, Russia, 117638

³ MIREA – Russian Technological University,
78, Vernadsky Ave., Moscow, Russia, 119454

⁴ Yevdokimov Moscow State Medical and Dental University,
4, Dolgorukovskaya Str., Moscow, Russia, 127006

⁵ Limited Liability Company "Health Practice",
1, Skobelevskaya Str., Moscow, Russia, 117624

⁶ National Research Ogarev Mordovia State University,
68, Bolshevistskaya Str., Saransk, Russia, 430005

⁷ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University,
11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

⁸ Yaroslavl State Medical University,
5, Revolutionary Str., Yaroslavl, Russia, 150000

⁹ Clinical Hospital No. 3,
61, Mayakovskogo Str., Yaroslavl, Russia, 150007

E-mail: kiryonok@yandex.ru

Received 15 July 2023

After peer review 20 Aug 2023

Accepted 25 Aug 2023

Liraglutide is one of the analogues of the incretin hormone human glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and is currently a priority treatment for diseases such as type 2 diabetes mellitus (mono- and combination therapy), obesity and overweight in the presence of at least one concomitant disease.

The aim of the work was to assess the bioequivalence and comparability of the safety and tolerability profile of the drug Enligr[®] (liraglutide 6 mg/ml, Promomed RUS LLC, Russia) and the drug Saxenda[®] (liraglutide 6 mg/ml, Novo Nordisk AS, Denmark) after a single dose in healthy volunteers.

Materials and methods. This study was an open-label, randomized, crossover comparative study to evaluate pharmacokinetic parameters, safety, tolerability and immunogenicity. The study comprised 26 healthy volunteers, 26 of whom were included in the bioequivalence assessment population. The study consisted of 2 periods, in each of which the volunteers received either the test drug (liraglutide at a single dose of 0.6 mg) or the reference drug (liraglutide at a single dose of 0.6 mg) once. The washout period between each dose was 7 days. Blood plasma samples were taken to determine the concentration of liraglutide in the range from 0 to 72 hours in each study period. Liraglutide concentrations were determined using a previously validated enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. A quantitative determination of antibodies to liraglutide in the blood serum samples was carried out using a microplate photometer and ready-made ELISA kits pre-validated by the manufacturer. The conclusion about the equivalence of the compared drugs was made based on the ratio of the parameters C_{max} , AUC_{0-72} and $AUC_{0-\infty}$ of the studied drug in relation to the reference one.

Results. The pharmacokinetic parameters of the drugs were comparable to each other. The resulting 90% confidence intervals for the ratio of the values of C_{max} , AUC_{0-72} and $AUC_{0-\infty}$ of the Russian test and reference drug were 87.18–110.46, 84.40–104.11 and 86.69–103.22% respectively, which satisfied the criteria for assessing bioequivalence. The tolerability of the drugs in the volunteers was notified as good. The incidence of adverse events was comparable for the test and reference drugs. No serious adverse events were reported throughout the study. According to the results of the immunogenicity analysis, no antibodies to russian produced liraglutide were detected in the blood serum of the volunteers, which indicated the lack of the drug immunogenicity.

Conclusion. During the study, the pharmacokinetic equivalence of the test and reference drugs was confirmed. The Russian drug Enligr[®] (liraglutide 6 mg/ml, Promomed RUS LLC, Russia) in comparison with a foreign drug Saxenda[®] (liraglutide 6 mg/ml, Novo Nordisk AS, Denmark)

Keywords: glucagon-like peptide-1; bioequivalence; pharmacokinetics; liraglutide, obesity, type 2 diabetes mellitus, Enligr

Abbreviations: T2DM – type 2 diabetes mellitus; GLP-1 – glucagon-like peptide-1; GIP – glucose-dependent insulinotropic polypeptide; CVDs – cardiovascular diseases; ASCVDs – atherosclerotic cardiovascular diseases; HbA_{1c} – glycated hemoglobin; ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay; BMI – body mass index; DPP-4 – dipeptidyl peptidase-4; API – active pharmaceutical substance; DNA – deoxyribonucleic acid; RNA – ribonucleic acid; GI tract – gastrointestinal tract; ARVI – acute respiratory viral infection; PCR – polymerase chain reaction; BAS – biologically active supplement; BP – blood pressure; HR – heart rate; RR – respiratory rate; ECG – electrocardiography; LDL-C – low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C – high-density lipoprotein cholesterol; AE – adverse event; SAE – serious adverse event; CI – confidence interval; POMC – pro-opiomelanocortin, CART – cocaine-amphetamine-regulated transcript; NPY – neuropeptide Y; AgLP – agouti-like protein; GABA – gamma-aminobutyric acid, CHF – chronic heart failure; CKD – chronic kidney disease.

ВВЕДЕНИЕ

Избыточная масса тела ассоциирована с метаболическими нарушениями и является актуальной проблемой современной медицины, поскольку приводит к развитию целого ряда хронических заболеваний, включая сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), сахарный диабет 2 типа (СД 2), а также оказывает серьезное влияние на ментальное здоровье^{1,2}. СД 2 представляет собой нарушение углеводного обмена, вызванное преимущественно инсулинорезистентностью и относительной инсулиновой недостаточностью или непосредственно нарушением секреции инсулина³.

Анализ данных клинической практики показывает, что зачастую у пациентов встречается наличие сразу двух заболеваний: ожирения и СД 2 [1]. Более того, люди с СД 2 испытывают больше трудностей на пути к снижению массы тела, чем люди, не страдающие данным заболеванием. Это обусловлено тем, что при инсулинорезистентном состоянии скелетные мышцы и печень являются основными органами, отвечающими за утилизацию глюкозы. Гиперинсулинемия способствует синтезу и накоплению триглицеридов, ингибируя при этом липолиз в адипоцитах, что приводит к увеличению объема жировой ткани [1, 2]. Результатом компенсаторной реакции на метаболические и гормональные изменения, сопровождающие начальное снижение веса, является увеличение синтеза орексигенных гормонов, отвечающих за стимуляцию аппетита [1]. Гипогликемические препараты, например сульфонилмочевина, тиазолидиндионы и инсулин, используемые в лечении пациентов с СД 2, обладают рядом побочных эффектов, таких как гипогликемия, увеличение массы тела, застойная сердечная недостаточность

¹ WHO European Regional Obesity Report 2022. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2022. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.who.int/europe/publications/i/item/9789289057738#:~:text=Overweight%20and%20obesity%20affect%20almost,in%20the%20WHO%20European%20Region>.

² Клинические рекомендации МЗ РФ «Ожирение», 2020. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/28_2

³ Клинические рекомендации «Сахарный диабет 2 типа у взрослых», 2022. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/290_2

и остеопороз, что не позволяет многим пациентам достичь ключевых терапевтических целей⁴.

Последние десятилетия активно изучалась роль инкретиновых гормонов в регуляции метаболизма углеводов в организме человека и их влияние на β -клетки. Было показано, что инкретины, среди которых одним из важнейших является глюкагоноподобный пептид-1 (ГПП-1), отвечают за выработку инсулина после приёма пищи, стимулируя глюкозозависимую секрецию инсулина. Помимо этого, ГПП-1 подавляет чрезмерно повышенную секрецию глюкагона, замедляет опорожнение желудка, снижает аппетит и потребление энергии, и как результат снижает массу тела^{5,6} [3, 4]. Терапевтический потенциал нативного ГПП-1 ограничен вследствие его быстрого расщепления ферментом дипептидилпептидазой-4 (ДПП-4) и короткого периода полувыведения (1–2 мин). В связи с этим был разработан лираглутид – первый аналог человеческого ГПП-1, демонстрирующий стойкое улучшение уровня гликированного гемоглобина (HbA1c), и нормализацию функции β -клеток у пациентов с СД 2, а также снижающий массу тела пациентов с избыточным весом или ожирением вне зависимости от наличия или отсутствия СД 2 [3, 5]. Благодаря уникальной структуре лираглутида, увеличивается время полувыведения препарата из плазмы до 13 ч в сравнении с 2 мин для нативного ГПП-1. Пролонгированность действия обеспечивается тремя механизмами: 1) олигомеризацией в гептамеры путём взаимодействия между гидрофобными остатками пальмитата на каждой молекуле лираглутида (замена одного аминокислотного остатка (аргинина на лизин) в 34 положении и присоединение в 26 положении к лизину боковой цепочки из C₁₆ пальмитиновой кислоты), в результате которой происходит замедление всасывания препарата; 2) связывание с сывороточным альбумином в подкожной клетчатке, приводящее к более длительному периоду полувыведения после подкожного введения (13 ч). С учётом максимальной концентрации препарата в крови, которая наблюдается через 10–14 ч, продолжительность действия лираглутида составляет 24 ч⁷ [3–5].

Агонист рецептора ГПП-1 – лираглутид, как и нативный ГПП-1, обладает благоприятными метаболическими эффектами, которые включают

глюкозозависимую стимуляцию секреции инсулина, снижение опорожнения желудка за счет прямого действия на гипоталамус, ингибирование потребления пищи, приводящее к снижению веса, увеличению натрийуреза и диуреза, снижение общего холестерина и систолического / диастолического артериального давления^{8,9} [3].

Оригинальный препарат лираглутида был одобрен для медицинского применения в 2009 году и используется в клинической практике под торговыми названиями Виктоза® (Ново Нордиск А/С, Дания) и Саксенда® (Ново Нордиск А/С, Дания). Помимо этого, в настоящее время препараты на основе лираглутида зарегистрированы в США, Японии и ряде европейских стран, включая Россию. Исследования II фазы по определению оптимальной дозы продемонстрировали, что лираглутид обладает всеми ожидаемыми свойствами ГПП-1 при применении у людей: его введение обеспечивает контроль глюкозы в течение суток, низкую частоту гипогликемии, а также снижение массы тела у большинства пациентов¹⁰.

Лираглутид в дозах 1,2 и 1,8 мг/сут с 2010 года успешно применяется в клинической практике для лечения больных СД 2. Результаты мета-анализа 6 исследований III фазы LEAD (Liraglutide Effect and Action in Diabetes) продемонстрировали, что лираглутид в сравнении с другими сахароснижающими препаратами, обеспечивает более эффективное достижение терапевтических параметров метаболического контроля HbA1c¹¹ [6].

Для лираглутида было отмечено также преимущество в отношении вторичной профилактики атеросклеротических ССЗ. Исследование LEADER (Liraglutide Effect and Action in Diabetes: Evaluation of Cardiovascular Outcome Results) по изучению отдаленных сердечно-сосудистых исходов у 9 340 больных на фоне длительного применения лираглутида (медиана 3,5 года) с СД 2 и высоким сердечно-сосудистым риском продемонстрировало снижение вероятности развития серьезных нежелательных явлений (СНЯ) на фоне применения препарата в дозе 1,8 мг по сравнению с плацебо [7].

Для лечения ожирения лираглутид 3 мг (Саксенда®, Ново Нордиск А/С, Дания) был зарегистрирован в 2014 году. Существенное превосходство лираглутида (3 мг) в сравнении с плацебо по влиянию на массу тела подтверждено в ходе серии рандомизированных двойных слепых, плацебо-контролируемых исследований, входивших в программу SCALE (Satiety and Clinical Adiposity –

⁴ Там же.

⁵ Регистр лекарственных средств России. Инструкция по медицинскому применению препарата Энлигрия. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.rlsnet.ru/drugs/enligraya-89718>

⁶ Assessment report EMA/143005/2015. Saxenda. 11 Feb 2015. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/saxenda-epar-public-assessment-report_en.pdf

⁷ Регистр лекарственных средств России. Инструкция по медицинскому применению препарата Энлигрия.

⁸ Там же.

⁹ Assessment report EMA/143005/2015. Saxenda, 2015.

¹⁰ Questions and answers on generic medicines. EMEA document. EMEA/393905/2006. London, UK: European Medicines Agency, 2007. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.emea.europa.eu/pdfs/human/pcwp/39390506en.pdf

¹¹ Там же.

Liraglutide Evidence in nondiabetic and diabetic individuals)¹² [8–12].

Также в других клинических исследованиях было показано, что лираглутид обладает уникальным терапевтическим потенциалом, благодаря его комбинированному воздействию и на массу тела, и на степень контроля гликемии [13–15]. Лираглутид относится к числу сахароснижающих препаратов, успешно применяющихся у больных СД 2, в том числе у пациентов с сердечно-сосудистой патологией. В исследовании «SCALE, диабет» доля больных, достигших уровня HbA1c <7%, на фоне терапии лираглутидом (3 мг) составила 69,2 против 27,2% (плацебо). В исследовании «SCALE, ожирение и предиабет» распространенность предиабета среди пациентов с установленным диагнозом при скрининге через 56 недель снизилась до 30,8%, в то время как в группе плацебо у такой же категории пациентов – до 67,3% [10, 11]. В ходе программы исследований SCALE было отмечено, что терапия лираглутидом (3 мг) сопровождалась снижением показателей систолического артериального давления, окружности талии, общего холестерина и холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП), увеличением холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП), что также доказывает, что терапия лираглутидом способствовала снижению кардиометаболического риска даже у пациентов с ССЗ [16, 17].

В ходе исследования по изучению влияния терапии лираглутидом на массу тела подростков в возрасте от 12 лет и старше было продемонстрировано, что лираглутид превосходил плацебо в снижении стандартного отклонения ИМТ (95% доверительный интервал [ДИ] от -0,37 до -0,08; $p=0,002$), а дополнительных рисков в отношении безопасности препарата выявлено не было [18].

На современном этапе лираглутид входит в российские клинические рекомендации по лечению СД2 у взрослых, лечению ожирения у взрослых и детей, лечению хронической болезни почек (ХБП) для снижения риска прогрессирования у пациентов с ХБП и СД2, лечению нарушений липидного обмена у пациентов с СД 2-го типа и ССЗ, имеющих очень высокий и высокий сердечно-сосудистый риск для снижения вероятности возникновения как новых сердечно-сосудистых осложнений (ССО), так и смерти¹³ [5], что определяет его востребованность в Российской Федерации. Соответственно, импортозамещение иностранных препаратов российскими аналогами и локализация полного цикла производства от субстанции до готовой

лекарственной формы для препаратов лираглутида приобретает особую актуальность и важность с точки зрения обеспечения лекарственной независимости страны.

На фармацевтическом рынке лираглутид был представлен только в виде соединения, полученного биотехнологическим путем. Однако с учетом аминокислотного строения данного пептида, отсутствия у него третичной структуры^{14,15} и ряда ограничений, известных для рекомбинантных препаратов, целесообразным является производство активной фармацевтической субстанции (АФС) лираглутида посредством химического синтеза [19]. Более того, производственные возможности биотехнологических препаратов ограничены низкой продуктивностью используемых штаммов, что может препятствовать наработке требуемого количества субстанции, что может быть критичным с учетом востребованности данной группы препаратов у пациентов. Данный фактор также говорит о целесообразности получения подобного рода препаратов методом химического синтеза.

Таким образом, представляет интерес разработка, анализ и производство синтетического лираглутида, а также сравнение его физико-химических и биологических свойств относительно молекулы, произведённой биотехнологическим путем. Химический синтез является высокопроизводительным, масштабируемым, коммерчески жизнеспособным процессом [20–22]. Производство лираглутида данным методом позволяет исключить спонтанную замену аминокислот в итоговом продукте, характерную для процесса жизнедеятельности микроорганизмов, получить продукт высокой чистоты, с минимальным количеством прогнозируемо-идентифицированных примесей и высоким выходом [23–25]. Более того, такой продукт является неизменным, однородным и в нем отсутствуют остаточные примеси клеток-продуцентов, такие как белки, ферменты, фрагменты ДНК и РНК, что способствует повышению профиля безопасности и снижению риска иммуногенности, а, следовательно, риска неэффективности терапии [25].

Существует определенный пул исследований, позволяющий доказать эффективность и безопасность лекарственного препарата. Согласно руководству FDA¹⁶, альфа-аминокислотные полимеры, такие как глюкагон, лираглутид и др., имеющие в своем составе до 40 аминокислотных остатков, считаются

¹² Регистр лекарственных средств России. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Саксенда. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.rlsnet.ru/drugs/saksenda-75258>

¹³ Клинические рекомендации «Сахарный диабет 2 типа у взрослых», 2022.

¹⁴ Liraglutide (Compound). – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Liraglutide#section=3D-Status>

¹⁵ Там же.

¹⁶ U.S. Food and Drug Administration. ANDAs for Certain Highly Purified Synthetic Peptide Drug Products That Refer to Listed Drugs of rDNA Origin Guidance for Industry, 2021. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/andas-certain-highly-purified-synthetic-peptide-drug-products-refer-listed-drugs-rdna-origin>

не белковыми молекулами, а пептидами¹⁷. По мнению FDA, для подтверждения эквивалентности синтетического пептида и лираглутида, полученного биотехнологическим путем, содержащегося в препарате-предшественнике, достаточно доказать структурную идентичность АФС¹⁸, используя современные аналитические методы. Компания ООО «Промомед РУС» разработала собственную технологию получения АФС с использованием методов химического синтеза и выделения лираглутида и готовую лекарственную форму для лечения как ожирения, так и СД 2. Для дополнительной оценки качества и безопасности разработанных препаратов их регистрации в нашей стране в соответствии с российскими регуляторными требованиями помимо физико-химических методов анализа и доклинических исследований было проведено исследование фармакокинетики, безопасности и иммуногенности лекарственного препарата Энлигрия® (лираглутид 6 мг/мл) в сравнении с зарубежным препаратом-предшественником.

ЦЕЛЬ. Оценить биоэквивалентность и сопоставимость профиля безопасности и переносимости лекарственного препарата Энлигрия® (лираглутид 6 мг/мл, ООО «Промомед РУС», Россия) и лекарственного препарата Саксенда® (лираглутид 6 мг/мл, Ново Нордиск А/С, Дания) при однократном применении здоровыми добровольцами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые препараты

Составы исследуемых препаратов были идентичны, состав препарата лираглутида российского производства Энлигрия® (ООО «Промомед РУС», Россия), раствор для подкожного введения 6 мг/мл (далее – российский лираглутид, испытуемый препарат) соответствовал составу референтного препарата лираглутида Саксенда® (Ново Нордиск А/С, Дания), раствор для подкожного введения 6 мг/мл (далее – зарубежный лираглутид, препарат сравнения).

Физико-химические исследования

Спектрофотометрия в ультрафиолетовой области (200–400 нм). При сравнении спектров поглощения в ультрафиолетовой области препаратов российского и зарубежного лираглутида, исследуемые растворы каждого препарата разводили водой для инъекций до концентрации лираглутида в растворе 0,03 мг/мл. Анализ проводили на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Shimadzu, Япония), при спектральном диапазоне волн 190–1100 нм.

Эксклюзионная высокоэффективная жидкостная хроматография. Метод эксклюзионной

хроматографии использовали для определения количественного содержания высокомолекулярных соединений в оригинальном зарубежном препарате и синтетическом аналоге лираглутида. Анализ проводили на жидкостном хроматографе с УФ-детекцией Agilent 1260 Infinity LC (Agilent Technologies, США) с использованием колонки Tosoh TSK-gel G 2000 SWXL (7,8×300 мм, 5 мкм). Исследование проводили при длине волны 276 нм.

Обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография. Метод обращенно-фазовой хроматографии использовали для определения количественного содержания лираглутида, его примесей и фенола в зарубежном препарате и российском аналоге, а также подтверждения подлинности действующего вещества (лираглутид) и консерванта (фенол). Анализ проводили при использовании жидкостного хроматографа с УФ-детекцией Prominence (Shimadzu, Япония), при длине волны 215 нм. Для анализа использовали колонки Jupiter 4 мкм Proteo 90Å (Phenomenex, 250×4,6 мм, 4 мкм, 90 Å) и Luna RP C8 (2) (Phenomenex, 4,6×50 мм, 5 мкм).

Верификация аминокислотной последовательности и определение интактной массы методом хромато-масс-спектрометрии (LC-MS). Подтверждение подлинности целевого компонента в оригинальном зарубежном препарате и синтетическом аналоге лираглутида проводили методом tandemной масс-спектрометрии высокого разрешения на квадруполь-времяпролетном масс-спектрометре maXis 4G ETD (Bruker, США). Верификацию аминокислотной последовательности осуществляли путем пептидного картирования с идентификацией пептидов методом ВЭЖХ/МС/МС с ионизацией электроспреем (ESI) и вторичной ионизацией, инициируемой соударениями (CID). Идентификацию пептида проводили по точной моноизотопной массе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией высокого разрешения (ВЭЖХ/МС) с ионизацией электроспреем (ESI).

Изучение биологической активности *in vitro*

Биологическая активность исследуемых препаратов оценивали *in vitro* на культуре клеток CHO-K1/GLP-1R (GenScript, США). Данная клеточная линия имеет рецепторы к ГПП-1, с которыми связывается активное действующее вещество препаратов – лираглутид.

Культивирование клеточной линии проводили с использованием культуральной среды RPMI (ПанЭко, Россия) с добавлением раствора пенициллина / стрептомицина (1%) и фетальной бычьей сыворотки (10%), при стандартных условиях (температура – 37±1°C, содержание CO₂ – 5±1%), в течение 2 сут. Полученную суспензию разбавляли

¹⁷ Там же.

¹⁸ Там же.

до концентрации $2,5 \times 10^5$ клеток/мл, переносили в 96-луночные планшеты (по 5×10^3 клеток/лунку) и инкубировали.

По завершении инкубации из планшетов удаляли среду и вносили по 7,5 мкл исследуемых образцов, после чего планшеты перемешивали в течение 30 с и инкубировали при комнатной температуре в течение 20 мин. Затем в планшеты добавляли по 7,5 мкл лизирующего буфера и инкубировали при комнатной температуре в течение 15 мин при непрерывном перемешивании.

Оценку результатов проводили с помощью набора cAMP-Glo™ Assay (Promega, США) в соответствии с инструкцией к набору.

Оценка биоэквивалентности, профиля безопасности, переносимости и иммуногенности

Данное клиническое исследование I фазы № LIR-062022 представляло собой открытое рандомизированное перекрестное двухпериодное сравнительное исследование с участием здоровых добровольцев. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Условия проведения и продолжительность исследования

Исследование было проведено с 23 января по 25 апреля 2023 года на базе исследовательского центра ГБУЗ Ярославской области «Клиническая больница № 3» (Ярославль, Россия).

Этическая экспертиза

Исследование соответствовало этическим принципам, изложенным в Хельсинской декларации последнего пересмотра, правилам Надлежащей клинической практики Евразийского экономического союза, Правилам надлежащей клинической практики Международного совета по гармонизации (ICH E6 GCP R2), а также другим законодательным актам, применимым к данному исследованию. Протокол клинического исследования был одобрен Минздравом России (разрешение № 725 от 26 декабря 2022 года) и Советом по этике МЗ (выписка из протокола № 335 заседания от 30 мая 2023 года), а также локальным этическим комитетом при исследовательском центре государственного бюджетного учреждения здравоохранения Ярославской области «Клиническая больница № 3» (выписка из протокола № 165 заседания от 30 сентября 2022 года).

Объекты исследования и критерии соответствия

Всего в исследование было включено 26 здоровых добровольцев, мужчины в возрасте от 18 до 45 лет

($32,42 \pm 7,78$ лет). Все участники подписали форму информированного согласия, а также изъявили способность и желание выполнять все предписания Протокола исследования. Кроме того, основными критериями включения были: масса тела >50 кг; ИМТ 18,5–26 кг/м² включительно; верифицированный диагноз «здоров» по данным стандартных клинических, лабораторных и инструментальных методов обследования; отрицательные результаты тестов на употребление алкоголя, психотропных и наркотических веществ и готовность отказаться от употребления алкоголя в течение участия в исследовании. Участники были предупреждены о необходимости использовать надежные методы контрацепции и воздержаться от донорства спермы на протяжении всего исследования и в течение 3-х мес после его окончания.

К основным критериям невключения относили: наличие хронических заболеваний различных систем органов; психических заболеваний; гиперчувствительность к препаратам исследования; применение в анамнезе лираглутида или других аналогов человеческого глюкагоноподобного пептида-1, прием лекарственных препаратов, оказывающих выраженное влияние на гемодинамику и/или функцию печени в течение менее 2 мес до скрининга; приём препаратов запрещенной терапии в течение менее 4 недель до скрининга; невозможность проведения подкожных инъекций; любые трудности с отбором крови в анамнезе или любые вазовагальные приступы во время отбора крови; хирургические вмешательства на ЖКТ (за исключением аппендэктомии) в анамнезе. Также нельзя было принять участие в исследовании в случае наличия следующих заболеваний и состояний: медуллярный рак щитовидной железы в анамнезе, в том числе в семейном; множественная эндокринная неоплазия 2 типа в анамнезе; тяжелая депрессия; суицидальные мысли или поведение, в том числе в анамнезе; острые инфекционные заболевания или симптомы ОРВИ в течение менее 4 недель до скрининга; наличие положительного ПЦР-теста на SARS-CoV-2. Добровольцев исключали из исследования в случае отказа от участия в клиническом исследовании, при приёме препаратов запрещенной терапии и положительном тесте на употребление алкоголя, психотропных и/или наркотических веществ, при наличии грубых нарушений требований и процедур Протокола, возникновения нежелательных явлений, а также при появлении в ходе исследования у добровольца любых заболеваний или состояний, которые делали невозможным дальнейшее его участие в исследовании. Врач-исследователь мог принять решение об исключении добровольца в интересах самого добровольца.

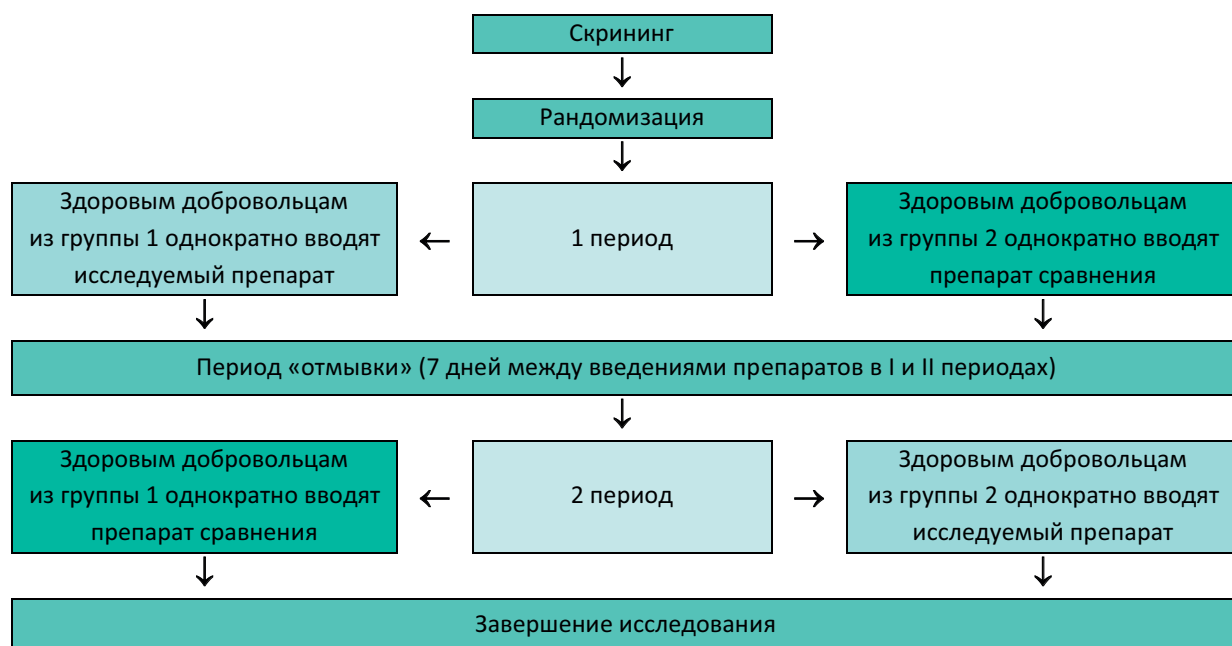


Рисунок 1 – Дизайн исследования

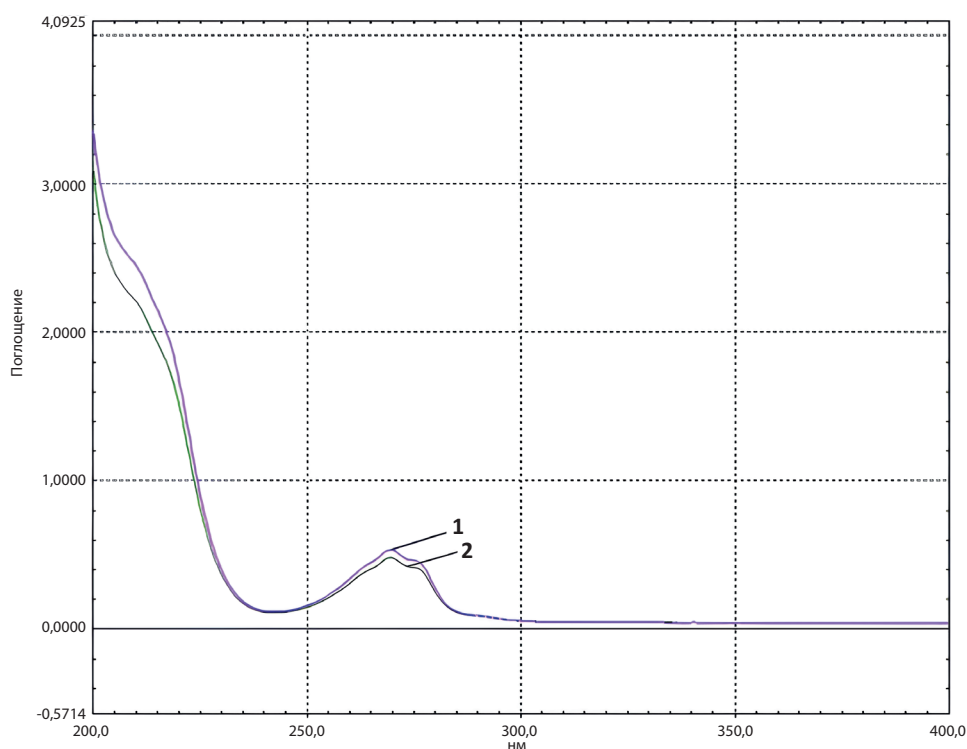


Рисунок 2 – Спектр поглощения препарата лираглутид

Примечание (здесь и для Рис. 3–6): 1 – синтезированный российский лираглутид; 2 – зарубежный лираглутид, оригинальный препарат.

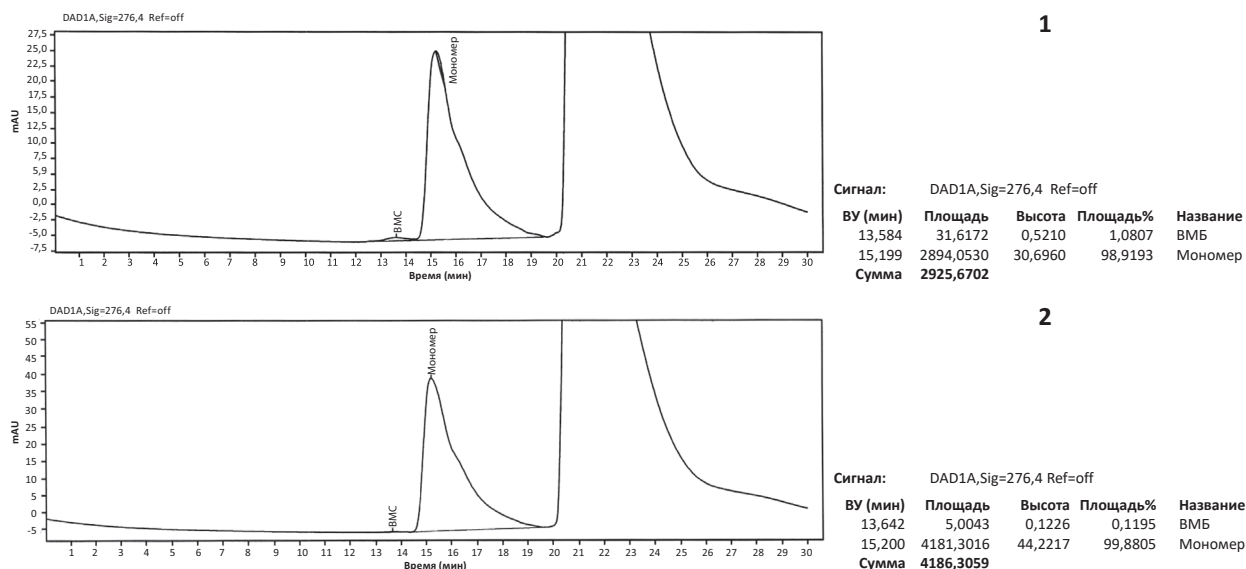


Рисунок 3 – Хроматограммы определения содержания высокомолекулярных соединений в препарате лираглутид, раствор для подкожного введения 6 мг/мл

Таблица 1 – Результаты хроматографического анализа препаратов лираглутида

Показатель	Саксенда®, раствор для подкожного введения 6 мг/мл, Ново Нордиск А/С, Дания	Энлигрия®, раствор для подкожного введения 6 мг/мл, ООО «Промомед РУС», Россия
Количественное определение лираглутида, мг/мл	6,4	6,3
Сумма примесей, %	2,367	0,904
Гидрофильные примеси, %	0,164	0,072
Примесь А, %	0,614	0,515
Примесь В, %	0,877	0,241
Примесь С, %	0,346	0,076
Гидрофобные примеси, %	0,366	Отсутствуют
Фенол, мг/мл	5,51	5,4

Таблица 2 – Средние значения фармакокинетических параметров после введения исследуемого препарата / препарата сравнения

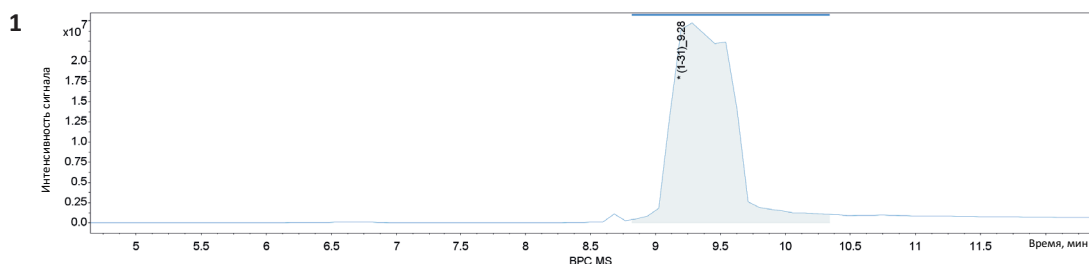
Параметр	Результаты, Mean±SD	
	Энлигрия®, раствор для подкожного введения 6 мг/мл, ООО «Промомед РУС», Россия	Саксенда®, раствор для подкожного введения 6 мг/мл, Ново Нордиск А/С, Дания
C_{max} (нг/мл)	53,68±21,65	54,70±21,91
T_{max} (ч)	11,93±4,60	13,60±4,94
$AUC_{0 \rightarrow t}$ (нг*ч/мл)	2313,96±671,11	2468,50±904,96
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$ (нг*ч/мл)	2695,30±677,48	2849,24±905,32
$AUC_{0 \rightarrow t} / AUC_{0 \rightarrow \infty}$ (%)	85,84±4,57	86,63±5,00
K_{el} (ч ⁻¹)	0,04±0,007	0,042±0,011
$T_{1/2}$ (ч)	17,45±3,19	16,54±3,35
V_d (л)	5,60±2,21	5,03±2,51
$AUC_{(t \rightarrow \infty)}$ (%)	13,35±4,56	12,23±5,00

Примечание: C_{max} – максимальная плазменная концентрация; T_{max} – время достижения C_{max} ; $AUC_{0 \rightarrow t}$ – площадь под кривой «плазменная концентрация – время» с момента приема до последней определяемой концентрации во временной точке t; $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ – площадь под кривой «плазменная концентрация – время» с момента приема лекарственного препарата до бесконечности; K_{el} – константа скорости терминальной элиминации; V_d – кажущийся объем распределения.

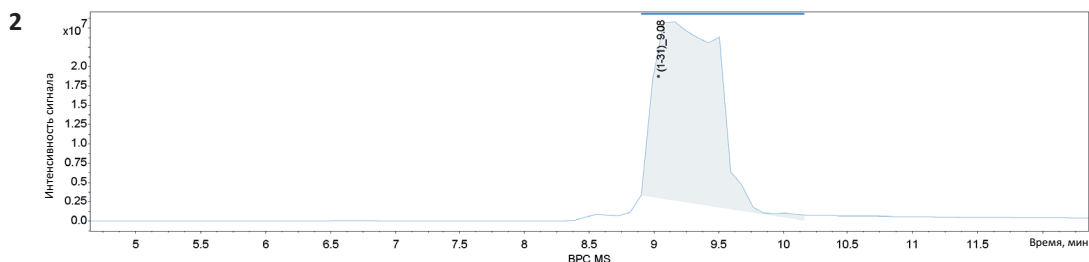
Таблица 3 – Значения рассчитанных 90% доверительных интервалов для показателей относительной биодоступности лираглутида после введения российского и зарубежного препарата

Показатель	Соотношение средних геометрических значений	Рассчитанные значения 90% ДИ	CV _{intra} , %
f'' $C_{\max}(T)/C_{\max}(R)$	98,13±34,24	87,18–110,46	25,33
f' $AUC_{0-t}(T)/AUC_{0-t}(R)$	93,74±26,73	84,40–104,11	22,38
f $AUC_{0 \rightarrow \infty}(T)/AUC_{0 \rightarrow \infty}(R)$	94,60±21,78	86,69–103,22	18,55

Примечание: $C_{\max}$ – максимальная плазменная концентрация; AUC_{0-t} – площадь под кривой «плазменная концентрация – время» с момента приема до последней определяемой концентрации во временной точке t ; $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ – площадь под кривой «плазменная концентрация – время» с момента приема лекарственного препарата до бесконечности; T – исследуемый препарат; R – препарат сравнения.



Cmpd.	m/z meas.	z	$\Delta m/z$ [ppm]	$\Delta m/z$ [Da]	Rt [min]	Score	No. of Cmpds.	P	Peptide	Sequence	Modification	Mod. Ratio [%]	Range
4	850.3762	2	0.32	0.0003	5.44	26.7	1	15		-HAEGTFTSDVSSYLEG.Q		100.0	1-16
94	1160.6108	3	2.34	0.0027	10.14	18.4	1	27		-HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVR.G	Gamma-(E)_Palmitoate: 20	100.0	1-28
97	1179.615	3	-0.20	-0.0002	10.23	24.5	1	28		-HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVR.G	Gamma-(E)_Palmitoate: 20	100.0	1-29
57	1250.6552	3	-0.72	-0.0009	9.37	62.7	3	30		-HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVR.G	Gamma-(E)_Palmitoate: 20	100.0	1-31
76	1204.969	3	-0.66	-0.0008	9.71	68.6	1	29		-HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVR.G	Gamma-(E)_Palmitoate: 19	100.0	2-31
79	1181.2899	3	-0.72	-0.0009	9.71	65.3	1	28		-AEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVR.G	Gamma-(E)_Palmitoate: 18	100.0	3-31
81	1119.2687	3	-0.63	-0.0007	9.71	57.3	1	26		-G.TFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVR.G	Gamma-(E)_Palmitoate: 16	100.0	5-31
89	973.8689	3	-1.95	-0.0019	9.97	48.9	1	22		-S.DVSSYLEGQAAKEFIAWLVR.G	Gamma-(E)_Palmitoate: 12	100.0	9-31



Cmpd.	m/z meas.	z	$\Delta m/z$ [ppm]	$\Delta m/z$ [Da]	Rt [min]	Score	No. of Cmpds.	P	Peptide	Sequence	Modification	Mod. Ratio [%]	Range
69	1160.6098	3	1.48	0.0017	10.11	40.5	1	27		-HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVR.G	Gamma-(E)_Palmitoate: 20	100.0	1-28
71	1179.6175	3	1.92	0.0023	10.19	33.5	1	28		-HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVR.G	Gamma-(E)_Palmitoate: 20	100.0	1-29
48	1231.6495	3	0.45	0.0006	9.51	61.4	2	29		-HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVR.G	Gamma-(E)_Palmitoate: 20	100.0	1-30
38	1250.6567	3	0.48	0.0006	9.25	72.8	3	30		-HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVR.G	Gamma-(E)_Palmitoate: 20	97.6	1-31
25	942.2424	4	-0.23	-0.0002	8.90	50.4	1	30		-HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVR.G	Gamma-(E)_Palmitoate: 20; Oxidation: 25	2.4	1-31
51	1204.9692	3	-0.49	-0.0006	9.68	60.2	1	29		-HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVR.G	Gamma-(E)_Palmitoate: 19	100.0	2-31
53	1181.2907	3	-0.05	-0.0001	9.68	54.8	1	28		-AEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVR.G	Gamma-(E)_Palmitoate: 18	100.0	3-31
52	1002.881	3	-0.48	-0.0005	9.59	52.4	1	23		-T.DVSSYLEGQAAKEFIAWLVR.G	Gamma-(E)_Palmitoate: 13	100.0	8-31
65	973.8703	3	-0.52	-0.0005	10.02	46.3	1	22		-S.DVSSYLEGQAAKEFIAWLVR.G	Gamma-(E)_Palmitoate: 12	100.0	9-31

Рисунок 4 – Результаты верификации аминокислотной последовательности образцов препаратов лираглутида, раствор для подкожного введения 6 мг/мл

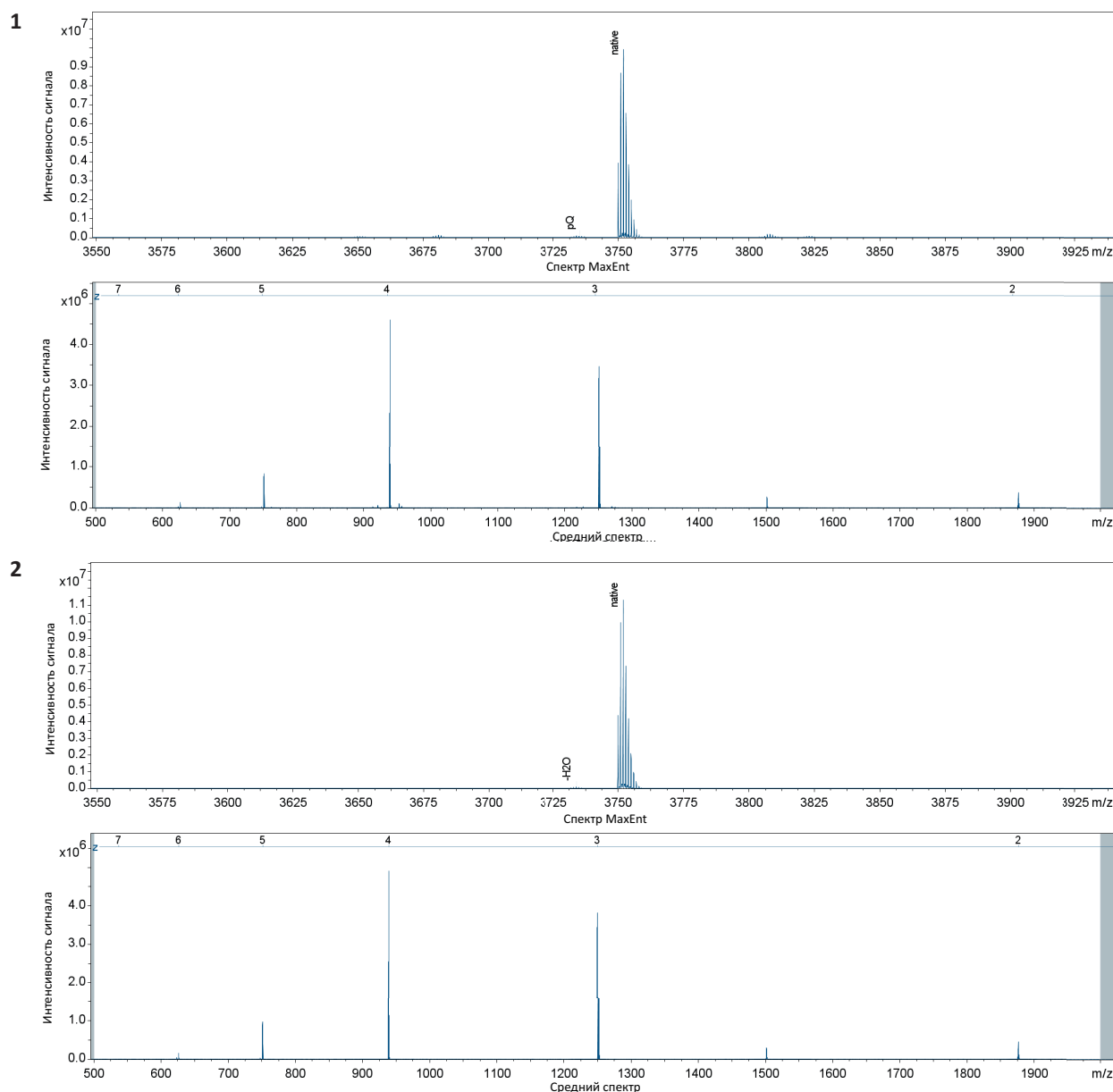


Рисунок 5 – Результаты идентификации масс белка в образцах препаратов лираглутида, раствор для подкожного введения 6 мг/мл (после деконволюции)

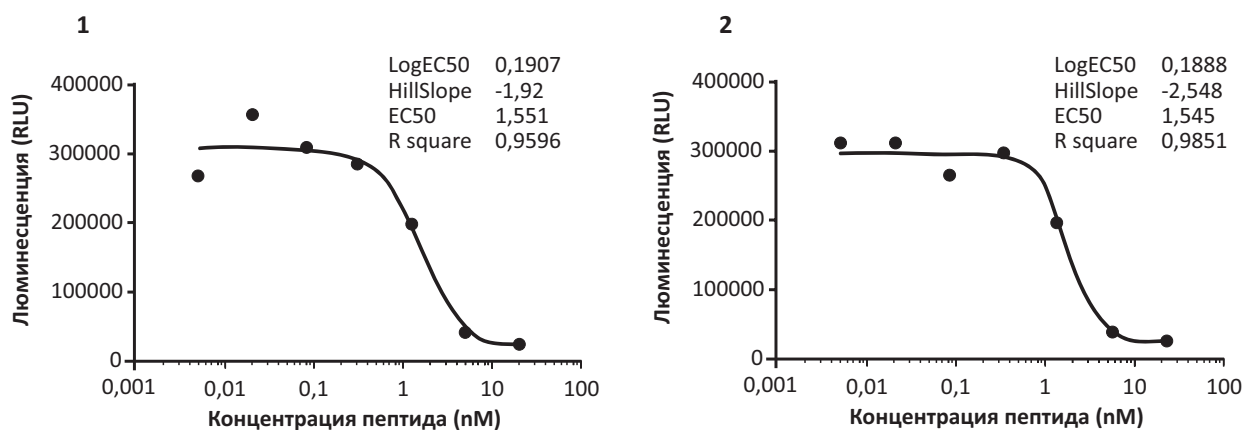


Рисунок 6 – График зависимости RLU от концентрации белка, полученный в рамках исследования связи с рецепторами ГПП-1 активного вещества образцов препарата лираглутида

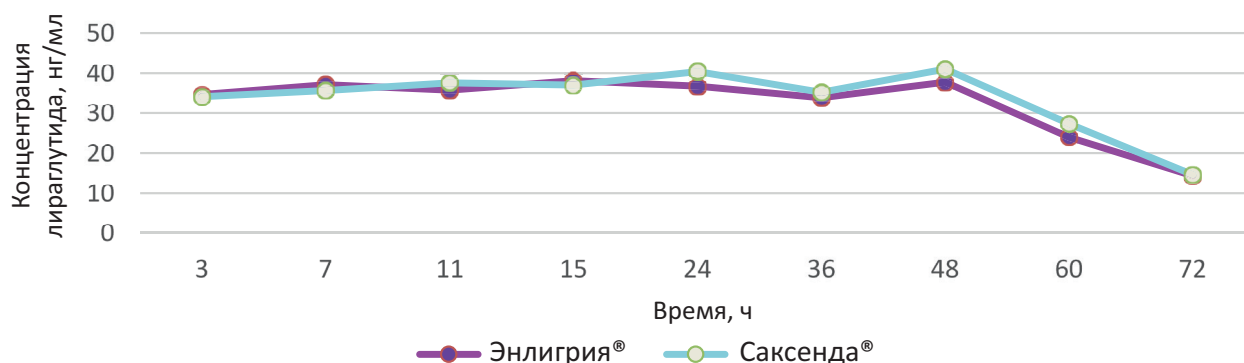


Рисунок 7 – Усреднённые показатели (Geom Mean) концентраций препаратов в линейном преобразовании без стандартных отклонений

Критерии исключения: отказ добровольца от участия в клиническом исследовании; врачом-исследователем принято решение, что добровольца необходимо исключить в интересах самого добровольца; ошибочное включение добровольца, не соответствующего критериям включения и/или соответствующего критериям невключения; положительный тест на употребление алкоголя, психотропных и/или наркотических веществ; опоздание в клинику для госпитализации более чем на 1 ч; пропуск 2-х и более отборов проб крови для определения фармакокинетических параметров подряд в течение одного периода исследования или трех отборов проб крови для определения фармакокинетических параметров в течение одного периода исследования; применение добровольцем витаминов, БАД, лекарственных препаратов, включая растительные и/или гомеопатические, за исключением исследуемого препарата / препарата сравнения; появление в ходе исследования у добровольца любых заболеваний или состояний, которые делают невозможным дальнейшее его участие в исследовании; добровольец отказывается сотрудничать, не дисциплинирован, не соблюдает правила участия в исследовании.

Оценку сопутствующей терапии и критериев исключения проводили на протяжении всего участия добровольца в исследовании. Общая продолжительность исследования для каждого добровольца составляла не более 25 дней.

Процедура рандомизации

Каждому добровольцу, соответствовавшему всем критериям включения и не соответствовавшему ни одному из критериев невключения, был присвоен рандомизационный номер в соответствии с планом рандомизации, подготовленным для данного исследования в программе WinPepi 11.65 (модуль ETCETERA 3.26) методом генерации случайных чисел. Рандомизационный номер добровольца вносил врач-исследователь в Журнал

скрининга / рандомизации субъектов исследования. Если доброволец преждевременно прекращал участие в исследовании, его рандомизационный номер повторно не использовали, и доброволец впоследствии уже не мог вернуться в исследование.

Введение препаратов

В качестве исследуемого препарата применяли препарат Энлигрия® (лираглутид, раствор для подкожного введения, 6 мг/мл, ООО «Промомед РУС», Россия). Препаратом сравнения являлся препарат Саксенда® (лираглутид, раствор для подкожного введения, 6 мг/мл, Ново Нордиск А/С, Дания). Добровольцы, соответствовавшие критериям включения и не соответствовавшие критериям невключения, были рандомизированы в 2 группы в соотношении 1:1. Группа I ($n=13$) получала в I периоде исследования российский лираглутид, во II периоде исследования – препарат сравнения – зарубежный лираглутид. Группа II ($n=13$) получала в I периоде исследования препарат сравнения, во II периоде исследования – исследуемый препарат. Введение препарата сравнения / исследуемого препарата осуществляли в дозе 0,6 мг однократно подкожно в область живота. Выбор дозы основан на российских и международных регуляторных требованиях к этичности и безопасности применения лекарственных препаратов у здоровых добровольцев^{19,20}, а также с учетом требований Надлежащей клинической практики, в рамках которой до начала исследования должна быть проведена оценка соотношения предвидимого (предсказуемого) риска и неудобств (в данном случае, влияние действующего вещества

¹⁹ Хельсинская Декларация «Всемирной Медицинской Ассоциации» «Этические принципы медицинских исследований с учетом человека в качестве испытуемого»: принята июнь 1964 г. – Эдинбург, 2000. – 50 с.

²⁰ Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 85 (ред. от 15.02.2023) «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207405/

на гликемический профиль и выработку инсулина) с ожидаемой пользой для субъекта исследования и общества. Следует заметить также, что для выбранной дозы имеется опыт клинического применения биоаналогичных препаратов лираглутида у здоровых добровольцев^{21,22} [4]. Стоит отметить, что результаты исследований показали линейность и пропорциональность кинетики при увеличении дозы согласно схеме применения препаратов лираглутида в соответствии с инструкцией по медицинскому применению, что также подтверждает обоснованность выбранной дозы у здоровых добровольцев и подтверждает неизменность результатов сравнения фармакокинетических параметров и параметров безопасности вне зависимости от повышения дозы [4, 26, 27]. Период отмывки составлял 7 дней и начинался непосредственно после введения исследуемого препарата / препарата сравнения добровольцу в рамках I периода. По данным литературы период полувыведения лираглутида составляет порядка 13 ч [4]. Таким образом, отмывочный период для минимизации рисков влияния первого приёма препаратов должен составлять не менее 5 периодов полувыведения, т.е. не менее 65 ч.

Для введения исследуемого препарата / препарата сравнения добровольцы были госпитализированы в стационар вечером накануне и не менее чем за 10 ч до введения препарата. На период нахождения в стационаре добровольцы соблюдали правила пребывания в нем. Длительность госпитализации составляла не более 4 сут. Во время проведения исследования было запрещено применение витаминов, БАД и/или лекарственных препаратов, включая растительные и гомеопатические препараты, за исключением предусмотренных настоящим Протоколом. В течение всего исследования, от начала скринингового обследования и до завершения заключительного осмотра, добровольцы воздерживались от пищи и напитков, которые могут влиять на функцию кровообращения, желудочно-кишечную деятельность, функции печени или почек и от приема алкоголя.

Подготовка и отбор проб

После рандомизации и перед началом введения исследуемого препарата / препарата сравнения добровольцам устанавливали кубитальный гепаринизированный катетер не более чем на 16,5 ч. После удаления катетера отбор крови у добровольцев проводили путем венепункции. Отбор проб крови для определения фармакокинетических

параметров осуществляли в следующие временные точки: за 10–15 мин до введения исследуемого препарата / препарата сравнения (исходная (0) проба) и далее через 1, 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 24, 36, 48, 60 и 72 ч после введения лираглутида. Исходную (0) проба также использовали для оценки иммуногенности. Таким образом, во всех периодах исследования проводили по 19 отборов проб крови для каждого добровольца (по 6 мл каждый) для исследования фармакокинетики.

Отбор проб крови для оценки иммуногенности исследуемого препарата / препарата сравнения осуществляли за 10–15 мин до введения исследуемого препарата / препарата сравнения в I и II периоде исследования. При скрининге проводили отбор крови объемом не более 18 мл для проведения клинического, биохимического, серологического анализов и определения уровня глюкозы в крови с помощью глюкометра. При завершении II периода исследования также проводили отбор крови для проведения клинического, биохимического анализов и определения уровня глюкозы в крови с помощью глюкометра (12 мл). Отбор образцов крови производили в пробирки для получения сыворотки с активатором свертывания. После образования сгустка пробирки центрифугировали, полученную сыворотку аккуратно переносили в предварительно промаркированные криопробирки, разделяя сыворотку на две аликвоты: одну для анализа (аликвота А), другую для повторных анализов (аликвота В). Образцы сыворотки замораживали сразу после получения и переноса в криопробирки и хранили при температуре не выше -70°C.

Аналитический метод

Оценку фармакокинетики проводили по концентрации лираглутида в плазме крови и антител к нему в сыворотке крови каждого добровольца после подкожного введения исследуемого препарата / препарата сравнения. Количественное определение лираглутида в образцах сыворотки крови проводили с помощью фотометра для микропланшетов HiPo MPP-96 (Biosan, Латвия). Расчет концентраций лираглутида проводили при помощи программного обеспечения «Quant Assay v0.8.2.6», а концентрации антител к лираглутиду с помощью «GraphPad Prism 8.4.3». Определение лираглутида в образцах сыворотки крови осуществляли с помощью предварительно валидированного метода иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием коммерчески доступных наборов «Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Liraglutide (LRT) Organism Species: Pan-species (General) (CEV769Ge 96 Tests)»; антител к лираглутиду с помощью набора «KRIBIOLISATM Anti-Liraglutide ELISA». Чувствительность метода

²¹ Регистр лекарственных средств России. Инструкция по медицинскому применению препарата Энлигрия.

²² Assessment report EMA/143005/2015. Saxenda, 2015.

составила 4,64 нг/мл, диапазон определения 12,35–1000,00 нг/мл. Приготовление калибровочных образцов из набора осуществляли путем разведения стандартного образца. Аналитический диапазон выбран в соответствии с инструкцией к набору.

Оценка безопасности и переносимости

В ходе исследования было проведено клиническое наблюдение за добровольцами с оценкой данных физикального осмотра, включая опрос о жалобах добровольца, основных жизненно важных показателей (АД, ЧСС, ЧДД, температура тела), ЭКГ в 12 отведениях, лабораторных показателей клинического, биохимического анализов крови, общего анализа мочи, определения уровня глюкозы в крови с помощью глюкометра. Критерии оценки безопасности включали в себя частоту и степень тяжести НЯ, зарегистрированных по данным отклонений от нормы результатов лабораторных анализов, физикального осмотра, оценки жизненно важных показателей, ЭКГ; количество случаев досрочного прекращения участия в исследовании из-за развития нежелательных явлений (НЯ) и/или серьезных нежелательных явлений (СНЯ), в том числе связанных с исследуемым препаратом / препаратом сравнения; частоту добровольцев с обнаруженными антителами к лираглутиду; оценку общей переносимости исследуемого препарата / препарата сравнения по шкале Лайкерта. Оценку безопасности и переносимости лираглутида проводили для всех добровольцев. Выявление НЯ происходило с момента введения исследуемого препарата до момента завершения участия добровольца в исследовании.

Фармакокинетические параметры: максимальная концентрация вещества в сыворотке крови (C_{max}); время достижения C_{max} (T_{max}); площадь под кривой «концентрация – время» с момента введения лекарственного препарата до последней определяемой концентрации во временной точке t ($AUC_{0 \rightarrow t}$); площадь под фармакокинетической кривой, начиная с нулевого значения времени до бесконечности ($AUC_{0 \rightarrow \infty}$); отношение значений $AUC_{0 \rightarrow t}$ к $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ ($AUC_{0 \rightarrow t} / AUC_{0 \rightarrow \infty}$); константа скорости терминальной элиминации (K_{el}); период полувыведения ($T_{1/2}$); объем распределения (V_d); остаточная (экстраполируемая) площадь под кривой, определяемая по формуле $AUC_{0 \rightarrow \infty} - AUC_{0 \rightarrow t} / AUC_{0 \rightarrow \infty}$ ($AUC_{(t \rightarrow \infty)}$); показатели относительной биодоступности и относительной степени всасывания ($f = AUC_{0 \rightarrow \infty}(T) / AUC_{0 \rightarrow \infty}(R)$; $f' = AUC_{0 \rightarrow t}(T) / AUC_{0 \rightarrow t}(R)$; $f'' = C_{max}(T) / C_{max}(R)$).

Статистический анализ

Для расчёта численности участников использовали данные о коэффициентах внутрииндивидуальной

вариабельности (CV_{intra}) параметров C_{max} , $AUC_{0 \rightarrow t}$ и $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ лираглутида. По данным литературных источников интраиндивидуальный коэффициент вариации для C_{max} , $AUC_{0 \rightarrow t}$ и $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ лираглутида не превышает 21% [7]. При перекрестном дизайне, принимая в расчёт, что 90% ДИ составили 80,00–125,00%, $CV_{intra} = 21\%$, $\alpha = 0,05$, мощность исследования – 80%, отношение геометрических средних – 0,95, было необходимо включение не менее 21 здорового добровольца (22 добровольцев с учетом равномерного распределения в исследуемые группы), которые полностью завершили исследование и были приняты в статистический анализ. С учётом выбывания в исследовании была запланирована рандомизация 26 здоровых добровольцев.

Для фармакокинетических расчётов было использовано фактическое время отбора проб крови. Расчёт фармакокинетических параметров, статистический анализ показателей безопасности и оформление результатов проводили с использованием статистических пакетов StatSoft Statistica версии 10.0/13.3, IBM SPSS Statistics 22 и с помощью программы R Project (версия 3.5.1, лицензия GPL-2/GPL-3) с расширением *beaR*, версия 2.8.3-2. Показатели, используемые для оценки фармакокинетики лираглутида, представлены в таблице 1.

Для всех фармакокинетических показателей рассчитывали следующие статистические параметры: среднее арифметическое, среднее геометрическое, стандартное отклонение среднего, коэффициент вариации, медиана, минимальное и максимальное значения, разброс.

Статистический анализ проводили, исходя из предположения о лог-нормальном распределении $AUC_{0 \rightarrow t}$, $AUC_{0 \rightarrow \infty}$, C_{max} и нормальном распределении остальных фармакокинетических параметров за исключением T_{max} . После проведения логарифмического преобразования эти показатели анализировали с помощью дисперсионного анализа (ANOVA), при стандартном уровне значимости $\alpha = 0,05$. Дисперсионный анализ применяли для проверки гипотез о статистической значимости вклада в наблюдаемую вариабельность следующих факторов: различия между препаратами, различия между здоровыми добровольцами, последовательность введения препаратов, периоды исследования.

Вывод об эквивалентности сравниваемых препаратов делали с использованием подхода, основанного на оценке 90% ДИ для отношений средних геометрических значений параметров C_{max} , $AUC_{0 \rightarrow t}$, $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ лираглутида.

Для всех показателей безопасности и переносимости, собранных в ходе исследования, представлена описательная статистика. Для

анализа частотных показателей было проведено сравнение долей при помощи двустороннего варианта точного критерия Фишера или критерия χ^2 . Для сравнения количественных непрерывных показателей использовали t -критерий Стьюдента (в случае нормального распределения) или критерий Манна-Уитни (в случае распределения, отличного от нормального). Статистически достоверными считались различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Физико-химические исследования

Спектрофотометрия

в ультрафиолетовой области

Полученные результаты (Рис. 2) продемонстрировали аналогичность спектров поглощения в УФ-области препаратов зарубежного лираглутида ($\text{min}=242,4$ нм; $\text{max}=269,6$ нм) и отечественного лираглутида ($\text{min}=242,2$ нм; $\text{max}=269,4$ нм).

Эксклюзионная высокоэффективная жидкостная хроматография

Типовые хроматограммы, полученные при проведении определения высокомолекулярных соединений представлены на рисунке 3.

Полученные результаты демонстрируют сопоставимость времени удерживания высокомолекулярных соединений и лираглутида, а также сопоставимость количественного содержания примесей высокомолекулярных соединений в препарате зарубежного (0,131%) и российского (0,052%) лираглутида.

Обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография

На основании полученных результатов (табл. 1) показано, что время удерживания хроматографических пиков лираглутида в препарате сравнения и в исследуемом препарате составляло около 14,7 мин, профили пиков хроматограмм для лираглутида и примесей были аналогичны. При этом на момент анализа содержание примесей в российском лираглутиде было в 3,5 раза ниже, чем в препарате иностранного производства, что может быть связано с технологией его получения.

Более того, в российском препарате лираглутида, содержащем в своем составе синтетическую молекулу, отсутствовали гидрофобные примеси.

Время удерживания хроматографических пиков фенола в препаратах составляло около 1,3 мин, что соответствовало времени удерживания фенола в растворе сравнения. Полученные данные свидетельствовали о том, что содержание фенола в препаратах зарубежного и российского лираглутида практически эквивалентно.

Верификация аминокислотной последовательности и определение интактной массы методом хромато-масс-спектрометрии (LC-MS)

Результаты верификации аминокислотной последовательности образца лираглутида российского производства с химически синтезированным активным веществом и зарубежного лираглутида представлены на рисунке 4.

Результаты идентификации масс белка с учетом возможных изоформ образца с химически синтезированным российским лираглутидом и зарубежным лираглутидом представлены на рисунке 5.

В результате верификации аминокислотной последовательности для всех образцов было получено 100% покрытие. Аминокислотная последовательность образцов полностью соответствовала заявленной. В результате идентификации, проводимой по точной массе белка с учетом возможных изоформ, было установлено, что точная моноизотопная масса всех образцов соответствовала заявленной структурной формуле.

Биологическая активность *in vitro*

Графики зависимости RLU от концентрации белка представлены на рисунке 6.

Полученные результаты демонстрируют сопоставимость биологической активности российского препарата ($\text{EC}_{50}=1,545$) с химически синтезированным активным веществом и оригинального зарубежного лираглутида ($\text{EC}_{50}=1,551$). Диапазон активности обоих исследуемых препаратов находился в пределах от 80 до 120% по отношению к стандартному образцу.

Биоэквивалентность и сопоставимость профиля безопасности и переносимости

Популяция

Всего в исследование было включено 26 добровольцев мужского пола. Все добровольцы были включены в популяцию для оценки безопасности, для анализа фармакокинетики и оценки биоэквивалентности. Средний возраст добровольцев в популяции составил $32,42 \pm 7,78$ лет, средняя масса тела – $78,61 \pm 5,27$ кг, средний рост – $178,62 \pm 4,99$ см, средний показатель индекса массы тела (ИМТ) составил $24,62 \pm 0,94$ кг/м². Демографические и исходные характеристики (пол, возраст, раса, вес, рост) добровольцев не отличались между группами.

Фармакокинетика и биоэквивалентность

Средние значения основных и дополнительных фармакокинетических параметров после применения отечественного препарата и референтного представлены в таблице 2.

График динамики средних концентраций лираглутида на фоне введения исследуемого препарата / препарата сравнения отражен на рисунке 7.

Как следует из представленных данных, средние значения как основных, так и дополнительных фармакокинетических параметров, полученных после применения исследуемого и референтного препаратов, были сопоставимы между собой.

По результатам статистического анализа полученные 90% ДИ для отношения значений $C_{\max}$, AUC_{0-t} и $AUC_{0-\infty}$ исследуемого российского и зарубежного препарата составили 87,18–110,46, 84,40–104,11 и 86,69–103,22% соответственно. Коэффициенты внутрииндивидуальной вариации, рассчитанные на основании анализа ANOVA, составили 25,33% для величины $C_{\max}$, 22,38% для величины AUC_{0-t} и 18,55% для величины $AUC_{0-\infty}$.

Таким образом, интервалы, полученные в ходе исследования, полностью соответствовали пределу эквивалентности 80,00–125,00% для показателей $C_{\max}$, AUC_{0-t} и $AUC_{0-\infty}$, наглядно демонстрируя биоэквивалентность исследуемого препарата и препарата сравнения (табл. 3).

Результаты дисперсионного анализа ANOVA показали, что различия в средних значениях основных фармакокинетических параметров не были статистически значимы и не вызваны различиями между сравниваемыми препаратами для факторов «Последовательность введения», «Период» и «Препарат» для фармакокинетических параметров $C_{\max}$, AUC_{0-t} и $AUC_{0-\infty}$.

Безопасность

Все добровольцы завершили исследование полностью в соответствии с утвержденным протоколом исследования. В ходе исследования у добровольцев не было зарегистрировано НЯ. В 100% (26) случаев у добровольцев переносимость была оценена как «хорошая». СНЯ в ходе проведения исследования и после его завершения у добровольцев не выявлено. Смертельные случаи не наблюдались. Случаев возникновения беременности половой партнерши участника исследования во время проведения исследования и после его завершения зарегистрировано не было. Не обнаружено отклонений от нормы по результатам клинического и биохимического анализа крови, определения уровня глюкозы в крови, общего анализа мочи, параметров основных жизненно важных показателей, физикального осмотра и ЭКГ.

Оценка иммуногенности

По результатам анализа параметров иммуногенности у добровольцев не были выявлены антитела к лираглутиду в сыворотке крови, что свидетельствовало об отсутствии иммуногенности

препарата. Неожиданные результаты при проведении исследования не отмечены.

Таким образом, исследуемый препарат Энлигрия® и препарат сравнения Саксенда® имели сходный профиль безопасности. При этом для отечественного препарата не было отмечено случаев иммуногенности, что подтверждает высокий профиль безопасности и снижение риска отсутствия эффективности терапии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Широкий спектр преимуществ лираглутида делает его стратегически выгодным и привлекательным для производства продуктом. Исходя из этого, нами был проведен поиск способов получения данного соединения и проанализированы преимущества и недостатки каждого из методов, чтобы до конца сформировать доказательную базу в пользу данного соединения.

Биотехнологический способ производства лираглутида

Лираглутид, разработанный компанией Ново Нордиск А/С (US7572884B2 [28], US7273921B2 [29]) впервые был представлен на российском рынке в 2010 году в качестве гипогликемического средства под названием Виктоза® (Victoza®), раствор для подкожного введения, 6 мг/мл [30]. Пептидный предшественник лираглутида был получен с помощью технологии генетической рекомбинации [31] с использованием *Saccharomyces cerevisiae* для экспрессии молекулы Arg34GLP-1 (7–37), структура которого была спроектирована таким образом, чтобы быть на 97% гомологичным нативному человеческому ГПП-1 путем замены аминокислоты аргинин на лизин в положении 34 [32, 33]. После чего сам лираглутид был получен путем присоединения S^{16} пальмитиновой кислоты через глутаминовый спейсер к ϵ -аминогруппе лизина, находящегося в положении 26 [32].

Saccharomyces cerevisiae является биологически безопасным штаммом с простыми генетическими манипуляциями и четким механизмом регуляции экспрессии генов [34]. По сравнению с полным химическим синтезом лираглутида, полухимический синтез, включающий экспрессию пептида-предшественника в генно-инженерной системе экспрессии белка и дальнейшую его химическую модификацию, является более экономичным и экологически чистым [33].

Однако такие эукариотические системы имеют ряд недостатков. Известно, что уровень экспрессии гетеролитических белков в *Saccharomyces cerevisiae*, особенно полипептидов ГПП-1, сильно зависит от протеазы в процессе ферментации. Именно поэтому исследователями была произведена попытка нокаутить различные гены протеазы

и гликозилазы в *S. cerevisiae*, для создания протеаз-дефицитного штамма, с целью увеличения экспрессии и уменьшения деградации целевого продукта [34].

В настоящее время экспрессия чужеродных генов может осуществляться с использованием не только эукариотических систем, но и прокариотических [35]. *Escherichia coli* (*E. coli*), является одной из предпочтительных систем экспрессии (US10851146B2 [31], CN114807205A [36], US2020024321A1 [37]), так как ее генетический фон и механизм регуляции хорошо изучены [35], она способна к размножению и не требует дорогостоящего оборудования [35, 38, 39].

Несмотря на все преимущества использования эукариотических и прокариотических систем экспрессии для производства пептида-предшественника лираглутида, биотехнологическое производство имеет ряд значительных недостатков. Основной проблемой является обеспечение генетической стабильности и соответствующего выхода продукта, так как используемые системы экспрессии могут производить белки с несовершенной структурой. Также при производстве лираглутида методом рекомбинантной технологии необходимо доказать, что продукт не загрязнен микроорганизмами и не содержит продуктов их жизнедеятельности [40]. Исходя из этого существует потребность в изучении и разработке способов получения лираглутида альтернативным путем.

Химический синтез

Можно выделить два стандартных подхода к химическому синтезу агонистов ГПП-1, а именно: синтез пептидов в жидкой фазе и синтез твердофазных пептидов. Кроме того, могут быть использованы гибридные подходы, описанные в патентах WO 2019069274 [40] и CN104650219 [41], при которых фрагменты сначала синтезируются одним из вышеперечисленных методов, а затем конденсируются вместе [42]. Основным недостатком такого синтеза является то, что для проведения реакции конденсации требуется избыточное количество пептидных фрагментов, что в свою очередь приводит к серьезным потерям, образованию большого количества примесей, и как следствие затрудняет очистку лираглутида, не позволяя тем самым получить чистый целевой продукт [43]. Увеличить выход пептида, и получить продукт большей чистоты при гибридном подходе возможно в процессе ультразвукового излучения и связывания фракционированных пептидов с использованием ионной жидкости и эвтектического растворителя [44].

Основной задачей в синтезе такого соединения как лираглутид является введение липофильной группы в боковую цепь лизина Lys²⁰. Создание такой разветвленной структуры может быть достигнуто

путем прямого введения липидированного промежуточного дипептида в растущую пептидную цепь или с использованием ортогонально защищенного лизина. В первом случае, для получения липидированного строительного блока в качестве исходного материала выбирают ортогонально защищенный лизин с целью селективного образования пептидной связи между ε-аминогруппой лизина и γ-карбоновой группой глутаминовой кислоты [24]. Например, в патентах US11066439B2 [22] и WO2013/037266 [45] описан твердофазный синтез лираглутида с использованием лизина, содержащего в своей структуре аллилоксикарбонильную защитную группу (Alloc), для снятия которой требуется металлический катализатор – тетраakis(трифенилфосфин) палладий – Pd(PPh₃)₄ [22, 43]. Однако данный метод не может быть использован для крупномасштабного производства, в силу технологических сложностей и высоких затрат. Кроме того, предложенный катализатор Pd(PPh₃)₄ чувствителен к влаге, следовательно, реакция должна проводиться в строго контролируемых условиях, а при получении конечного продукта необходимо учитывать содержание тяжелых металлов [22].

Использование лизината меди (II) может заметно упростить получение пальмитоилированного промежуточного продукта, так как медные комплексы трифункциональных аминокислот, таких как Lys, Asp или Glu, могут обеспечить временную защиту для селективного введения протекторных групп в боковую цепь. Данный метод является коммерчески жизнеспособным, так как он широко используется в производстве защищенных аминокислот в качестве сырья для промышленного синтеза пептидов. Более того, процедуры хранения и утилизации медьсодержащих отходов хорошо известны и не создают особых проблем ввиду низкой токсичности солей меди [24].

В препарате Энлигрия® действующее вещество лираглутид получено в результате химического синтеза. Данный метод имеет ряд преимуществ в производстве пептидов, обеспечивая стабильное получение четко заданной структуры пептида, с чем связан прогнозируемый и управляемый эффект и исключение попадания в готовую форму чужеродных примесей продуцентов (белков и биомолекул), что обеспечивает высокую степень чистоты и нивелирует вероятность изменений свойств получаемой субстанции, а также снижает риск возникновения НЯ и иммуногенности [22, 44, 46, 47].

Основные преимущества лираглутида

Как говорилось ранее, лираглутид является аналогом человеческого ГПП-1, который стимулирует глюкозозависимую секрецию инсулина. При этом механизм действия лираглутида имеет ряд

отличий от эффектов нативного ГПП-1. В результате экспериментальных работ на животных было выяснено, что препарат обладает преимущественно центральным действием, оказывая эффект в дугообразных ядрах гипоталамуса. При периферическом введении лираглутид, связываясь с рецепторами ГПП-1, активирует пул анорексигенных проопиомеланокортины и кокаин-амфетамин-регулируемого транскрипта, или иначе ПОМК/КАРТ-продуцирующих нейронов. В тоже время снижение активности орексигенных нейронов, вырабатывающих нейропептид Y (НПУ) и агутиподобный белок (АПБ), происходит опосредованно, путем ингибирования выработки ГАМК. [48, 49]. Согласно исследованиям, проведенным у человека, на фоне введения лираглутида статистически более значимо повышалось чувство насыщения и сытости после еды, уменьшалось выраженность голода по сравнению с плацебо. При этом замедление опорожнения желудка наблюдалось лишь в течение первого часа после введения препарата, уже через 5 ч разница по сравнению с плацебо не прослеживалась [50].

Исследования показали, что лираглутид (1,8 мг), не считая остальных аналогов ГПП-1, является одним из приоритетных препаратов у пациентов с СД 2 и с указаниями на высокий риск ССЗ или уже имеющиеся ССЗ, ХСН, ХБП, а препарат лираглутида (3 мг) являлся единственным препаратом из группы ГПП-1, имеющим в России показание «коррекция массы тела у взрослых и подростков с ожирением или с избыточной массой тела при наличии сопутствующих заболеваний»²³. В РФ с недавнего времени препараты лираглутида иностранного производства стали коммерчески недоступны в связи с ограничениями поставок со стороны компании – производителя.

В 2023 г лираглутид был включен в перечень препаратов, которые находятся в дефиците или в отношении которых есть риск ее возникновения²⁴. Компанией ООО «Промомед РУС» был разработан препарат на основе лираглутида Энлигрия®. Сравнительное клиническое исследование I фазы было проведено в соответствии с действующим законодательством РФ и ЕАЭС.

14 сентября 2023 года была осуществлена государственная регистрация первого отечественного препарата лираглутида Энлигрия® (ЛП 008822), что возвращает возможность персонализации терапии пациентов с ожирением и избыточной массой тела.

Несмотря на некоторые ограничения проведенного исследования, в частности, участия только здоровых добровольцев мужского пола, исследование проведено в соответствии со стандартами GCP и российскими и международным рекомендациями, разработанными для данной группы препаратов

²³ Клинические рекомендации МЗ РФ «Ожирение», 2020.

²⁴ Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации. Лираглутид. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx?s=%D0%BB%D0%B8%D1%80%D0%B0%D0%B3%D0%BB%D1%83%D1%82%D0%B8%D0%B4&m=INN>

На фоне введения препарата Энлигрия® у участников исследования не было выявлено НЯ, отмечалась хорошая переносимость. СНЯ также не было выявлено. Отдельно стоит отметить, что ни у одного из участников не было обнаружено антител к лираглутиду (Энлигрия®). У пациентов с ожирением или избыточной массой тела и как минимум с одним сопутствующим заболеванием, получавших референтный препарат лираглутид 3,0 мг наиболее часто отмечаемыми побочными эффектами были нарушения со стороны ЖКТ легкой и средней степени тяжести. У 2,5 % пациентов данной группы появились антитела к лираглутиду, что не привело к снижению эффективности препарата²⁵ [8, 9–12]. К основным факторам, влияющим на вероятность иммунного ответа²⁶, относятся производственный процесс, рецептура, характеристики стабильности препарат²⁷ [51]. В референтном препарате лираглутида использован биотехнологический метод рекомбинантной ДНК в *Saccharomyces cerevisiae*²⁸. При таком способе производства существует потенциальная опасность индукции иммунной реакции за счёт структурной трансформации белка действующего вещества и наличия примесей, например фрагментов клеток-продуцентов или продуктов реакции с вспомогательными веществами. Неблагоприятные реакции могут варьировать от клинически незначимых, например, выработка антител, которые не оказывают влияния на эффективность терапии и выраженность побочных эффектов, до серьезных нежелательных реакций, когда антитела нейтрализуют белок действующего вещества вплоть до полной потери биологической активности²⁹ [51, 52]. Технология на основе химического синтеза, используемая для производства российского лираглутида, исключает наличие примесей клеток-продуцентов и, следовательно, обеспечивает высокий профиль безопасности и снижение вышеописанных рисков развития иммуногенности^{30,31} [51–53].

²⁵ Регистр лекарственных средств России. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Саксенда.

²⁶ EMEA/CHMP/BWP/14327/2006. Guideline on immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins. – EMEA, 2007. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-immunogenicity-assessment-biotechnology-derived-therapeutic-proteins-first-version_en.pdf

²⁷ U.S. Food and Drug Administration. Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products — Developing and Validating Assays for Anti-Drug Antibody Detection, 2019. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/immunogenicity-testing-therapeutic-protein-products-developing-and-validating-assays-anti-drug>

²⁸ Регистр лекарственных средств России. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Саксенда.

²⁹ U.S. Food and Drug Administration. Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products — Developing and Validating Assays for Anti-Drug Antibody Detection, 2019.

³⁰ Регистр лекарственных средств России. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Саксенда.

³¹ U.S. Food and Drug Administration. ANDAs for Certain Highly Purified Synthetic Peptide Drug Products That Refer to Listed Drugs of rDNA Origin Guidance for Industry, 2021.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований собрано достаточное количество данных, подтверждающих аналогичность физико-химических и биологических свойств препарата с химически синтезированным активным веществом лираглутид Энлигрия® (раствор для подкожного введения 6 мг/мл, ООО «Промомед РУС», Россия) с референтным препаратом Саксенда® (раствор для подкожного введения 6 мг/мл, Ново Нордиск А/С, Дания). Исходя из этого можно сделать вывод о том, что качество, безопасность и эффективность препарата с синтетическим аналогом активного вещества подобны препарату сравнения, а по ряду параметров даже превосходят его.

Снижение медико-социального ущерба, обусловленного ростом распространенности ожирения, является одним из приоритетных направлений развития системы здравоохранения РФ. Включение в схемы терапии данного заболевания современных качественных эффективных и безопасных препаратов приобретает особое значение. Выход на рынок российских препаратов – агонистов рецепторов ГПП-1 позволит пациентам

получать терапию, соответствующую современным требованиям. В проведенном открытом рандомизированном перекрестном сравнительном исследовании по оценке фармакокинетических параметров, безопасности и переносимости с участием здоровых добровольцев была подтверждена эквивалентность исследуемого лекарственного препарата Энлигрия® и препарата сравнения Саксенда®, а также продемонстрирован высокий профиль безопасности, переносимости исследуемого препарата и отсутствие иммуногенности. На основании полученных данных препарат Энлигрия® был зарегистрирован на территории РФ. Использование в производстве препарата метода химического синтеза определяет идентичность оригинальному продукту активного действующего вещества и низкий риск неблагоприятных иммунных реакций. Целесообразным является проведение дальнейших клинических исследований для оценки эффективности и безопасности терапии пациентов с ожирением и избыточным весом, а также для определения потенциально новых возможностей терапии агонистами ГПП-1, в том числе российским аналогом лираглутида.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Клиническое исследование проводилось при поддержке компании ООО «Промомед РУС». Спонсор не оказывал влияние на выбор материала для публикации, анализ и интерпретацию данных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

А.С. Аметов – разработка концепции клинического исследования, анализ и описание результатов, корректировка текста; И.Е. Шохин – организация и проведение физико-химических исследований, интерпретация результатов; Е.А. Рогожина – организация и проведение исследований физико-химических и биологических свойств, обсуждение дизайна и результатов исследования; Т.Г. Бодрова – анализ и подбор литературных источников, написание текста статьи, организация и проведение физико-химических исследований, интерпретация результатов; М.Е. Невретдинова – анализ и подбор литературных источников, интерпретация результатов, написание текста статьи; П.А. Белый – реализация дизайна исследования, обработка данных исследования; К.Я. Заславская – разработка дизайна и концепции исследования, написание текста статьи; Д.В. Куркин – анализ и описание результатов; К.Н. Корянова – анализ и описание результатов, поиск и анализ литературных источников; Е.С. Мищенко – анализ и описание результатов; С.М. Носков – разработка дизайна и концепции клинического исследования. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Галстян Г.Р., Шестакова Е.А., Скланник И.А. Ожирение и сахарный диабет 2 типа: поиск компромиссного терапевтического решения // Сахарный диабет. – 2017. – Т. 20, № 4. – С. 270–278. DOI: 10.14341/DM8726
2. Lau D.C., Teoh H. Impact of current and emerging glucose-lowering drugs on body weight in type 2 diabetes // Can J Diabetes. – 2015. – Vol. 39, Suppl 5. – P. 148–154. DOI: 10.1016/j.cjcd.2015.09.090
3. Madsbad S. Liraglutide Effect and action in diabetes (LEAD™) trial // Expert Rev Endocrinol Metab. – 2009. – Vol. 4, No. 2. – P. 119–129. DOI: 10.1586/17446651.4.2.119
4. Mai G., Fan L., Li M., Zhang P., Gan C., Huang Q., Shentu J. A randomized phase 1 pharmacokinetic study comparing the potential biosimilar LRG201902 with liraglutide (Victoza®) in healthy male subjects // Front Pharmacol. – 2021. – Vol. 11. – Art. ID: 610880. DOI: 10.3389/fphar.2020.610880
5. Шестакова М.В. Лираглутид – возможности комплексного терапевтического подхода в терапии СД 2 типа. Сахарный диабет. – 2009. – Т. 12, № 5. – С. 3–6. DOI: 10.14341/2072-0351-5807

6. Романцова Т.И. Аналог глюкагоноподобного пептида-1 лираглутид (Саксенда®): механизм действия, эффективность в лечении ожирения // Ожирение и метаболизм. – 2018. – Т. 15, № 1 – С. 3–11. DOI: 10.14341/ОМЕТ201813-11
7. Marso S.P., Daniels G.H., Brown-Frandsen K., Kristensen P., Mann J.F., Nauck M.A., Nissen S.E., Pocock S., Poulter N.R., Ravn L.S., Steinberg W.M., Stockner M., Zinman B., Bergenstal R.M., Buse J.B.; LEADER Steering Committee LEADER Trial Investigators. Liraglutide and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes // N Engl J Med. – 2016. – Vol. 375, No. 4. – P. 311–322. DOI: 10.1056/NEJMoa1603827
8. Wadden T.A., Hollander P., Klein S., Niswender K., Woo V., Hale P.M., Aronne L.; NN8022-1923 Investigators. Weight maintenance and additional weight loss with liraglutide after low-calorie-diet-induced weight loss: the SCALE Maintenance randomized study // Int J Obes (Lond). – 2013. – Vol. 37, No. 11. – P. 1443–1451. DOI: 10.1038/ijo.2013.120. Erratum in: Int J Obes (Lond). – 2013. – Vol. 37, No. 11. – Art. ID: 1514. Erratum in: Int J Obes (Lond). – 2015. – Vol. 39, No. 1. – Art. ID: 187.
9. Pi-Sunyer X., Astrup A., Fujioka K., Greenway F., Halpern A., Krempf M., Lau D.C., le Roux C.W., Violante Ortiz R., Jensen C.B., Wilding J.P.; SCALE Obesity and Prediabetes NN8022-1839 Study Group. A randomized, controlled trial of 3.0 mg of liraglutide in weight management // N Engl J Med. – 2015. – Vol. 373, No. 1. – P. 11–22. DOI: 10.1056/NEJMoa1411892
10. le Roux C.W., Astrup A., Fujioka K., Greenway F., Lau D.C.W., Van Gaal L., Ortiz R.V., Wilding J.P.H., Skj  th T.V., Manning L.S., Pi-Sunyer X.; SCALE Obesity Prediabetes NN8022-1839 Study Group. 3 years of liraglutide versus placebo for type 2 diabetes risk reduction and weight management in individuals with prediabetes: a randomised, double-blind trial // Lancet. – 2017. – Vol. 389, No. 10077. – P. 1399–1409. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)30069-7. Erratum in: Lancet. – 2017. – Vol. 389, No. 10077. – Art. ID: 1398.
11. Davies M.J., Bergenstal R., Bode B., Kushner R.F., Lewin A., Skj  th T.V., Andreasen A.H., Jensen C.B., DeFronzo R.A.; NN8022-1922 Study Group. Efficacy of liraglutide for weight loss among patients with type 2 diabetes: The SCALE diabetes randomized clinical trial // JAMA. – 2015. – Vol. 314, No. 7. – P. 687–699. DOI: 10.1001/jama.2015.9676. Erratum in: JAMA. – 2016. – Vol. 315, No. 1. – Art. ID: 90.
12. Abstracts of the 50th EASD Annual Meeting, September 15–19, 2014, Vienna, Austria // Diabetologia. – 2014. – Vol. 57, Suppl 1. – P. 1–564. DOI: 10.1007/s00125-014-3355-0
13. Бутрова С.А. Метаболический синдром: патогенез, клиника, диагностика, подходы к лечению // РМЖ. – 2001. – Т. 2. – С. 56.
14. Astrup A., Carraro R., Finer N., Harper A., Kunesova M., Lean M.E., Niskanen L., Rasmussen M.F., Rissanen A., R  ssner S., Savolainen M.J., Van Gaal L.; NN8022-1807 Investigators. Safety, tolerability and sustained weight loss over 2 years with the once-daily human GLP-1 analog, liraglutide // Int J Obes (Lond). – 2012. – Vol. 36, No. 6. – P. 843–854. DOI: 10.1038/ijo.2011.158. Erratum in: Int J Obes (Lond). – 2012. – Vol. 36, No. 6. – Art. ID: 890. Erratum in: Int J Obes (Lond). – 2013. – Vol. 37, No. 2. – Art. ID: 322.
15. Jensen M.D., Ryan D.H., Apovian C.M., Ard J.D., Comuzzie A.G., Donato K.A., Hu F.B., Hubbard V.S., Jakicic J.M., Kushner R.F., Loria C.M., Millen B.E., Nonas C.A., Pi-Sunyer F.X., Stevens J., Stevens V.J., Wadden T.A., Wolfe B.M., Yanovski S.Z., Jordan H.S., Kendall K.A., Lux L.J., Mentor-Marcel R., Morgan L.C., Trisolini M.G., Wnek J., Anderson J.L., Halperin J.L., Albert N.M., Bozkurt B., Brindis R.G., Curtis L.H., DeMets D., Hochman J.S., Kovacs R.J., Ohman E.M., Pressler S.J., Sellke F.W., Shen W.K., Smith S.C. Jr., Tomaselli G.F.; American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines; Obesity Society. 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society // Circulation. – 2014. – Vol. 129, No. 25, Suppl 2. – P. 102–138. DOI: 10.1161/01.cir.0000437739.71477.ee. Erratum in: Circulation. – 2014. – Vol. 129, No. 25, Suppl 2. – P. 139–140.
16. Дорофеева Л.Г., Котешкова О.М., Анциферов М.Б. Сибутрамин в терапии ожирения у больных сахарным диабетом типа 2 // Фарматека. – 2006. – № 3. – С. 45–47.
17. Kolotkin R.L., Gabriel Smolarz B., Meincke H.H., Fujioka K. Improvements in health-related quality of life over 3 years with liraglutide 3.0 mg compared with placebo in participants with overweight or obesity // Clin Obes. – 2018. – Vol. 8, No. 1. – P. 1–10. DOI: 10.1111/cob.12226
18. Kelly A.S., Auerbach P., Barrientos-Perez M., Gies I., Hale P.M., Marcus C., Mastrandrea L.D., Prabhu N., Arslanian S.; NN8022-4180 Trial Investigators. A Randomized, Controlled Trial of Liraglutide for Adolescents with Obesity // N Engl J Med. – 2020. – Vol. 382, No. 22. – P. 2117–2128. DOI: 10.1056/NEJMoa1916038
19. Xinyu L., Yuqing F., Hongji M., Lifan W., Lixiang Z., Wenjing L., Zhouwen X. Method for preparing liraglutide. WO Patent WO2021143159A1. 2021 Jul 22.
20. Chandrakant K., Manoj B., Nivrutti J., Sandip A., Swamy V. Process of preparation of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor agonists and their analogs. WO Patent WO2020188510A2. 2020. Sep 24.
21. Malolanarasimham K., Ugan R.N., Kedari C.K., Tulam V.K., Vasker R.G. Acylation process for preparation of liraglutide: WO Patent WO2016059609A1. 2015 Oct 16.
22. Ganga R.V., Patil N., Charyulu P.V.R., Jasmine C.R., Machani R., Suvarna D.S., inventors; Biocon Ltd, assignee. Synthesis of liraglutide. United States Patent US11066439B2. 2021 Jul 20.
23. Yuqing F., Xinyu L., Hongji M., Zhouwen X., Lixiang Z., Lifan W., Wenjing L. Method for preparing liraglutide. China Patent CN113135989A. 2023 Oct 03.
24. Guryanov I., Orlandin A., de Paola I., Viola A., Biondi B., Badocco D., Formaggio F., Ricci A., Cabri W. Copper (II) lysinate and pseudoproline assistance in the convergent synthesis of the GLP-1 receptor agonists liraglutide and semaglutide // Org Proc Res Develop. – 2021. – Vol. 25, No. 7. – P. 1598–1611. DOI: 10.1021/acs.oprd.1c00021
25. Wang L., Wang N., Zhang W., Cheng X., Yan Z., Shao G., Wang X., Wang R., Fu C. Therapeutic peptides: current applications and future directions // Signal Transduct Target Ther. 2022. – Vol. 7, No. 1. – Art. ID: 48. DOI: 10.1038/s41392-022-00904-4

26. Watson E., Jonker D.M., Jacobsen L.V., Ingwersen S.H. Population pharmacokinetics of liraglutide, a once-daily human glucagon-like peptide-1 analog, in healthy volunteers and subjects with type 2 diabetes, and comparison to twice-daily exenatide // *J Clin Pharmacol.* – 2010. – Vol. 50, No. 8. – P. 886–894. DOI: 10.1177/0091270009354996
27. Jiang J., Zhang J., Jacobsen L.V., Hu P. The pharmacokinetics, pharmacodynamics, and tolerability of liraglutide, a once-daily human GLP-1 analogue, after multiple subcutaneous administration in healthy Chinese male subjects // *J Clin Pharmacol.* – 2011. – Vol. 51, No. 12. – P. 1620–1627. DOI: 10.1177/0091270010389468
28. Hoeg-Jensen T., Egel-Mitani M., Balschmidt P., Markussen J., Diers I. Method for making acylated polypeptides. United States Patent US7572884B2. 2009 Aug 11.
29. Dunweber D.L., Jensen I.H., Hansen L.B. Method for producing acylated peptides. United States Patent US7273921B2. 2007 Sep 25.
30. Хачатурян Н.Э., Егшатын Л.В., Мкртумян А.М. Дулаглутид – новое в лечении сахарного диабета 2 типа // *Эффективная фармакотерапия.* – 2019. – Т. 15, № 25. – С. 20–28. DOI: 10.33978/2307-3586-2019-15-25-20-28
31. Pan S., Tang C., Li C., Liu X., Cui H., Chen S., Zhang H. Method for preparing liraglutide intermediate polypeptide. United States Patent US10851146B2. 2020 Dec 01.
32. Budhdev R.R., Sekhar N.M., Ramaswamy K., Komaravolu Ya.K.K., Gandavadi S.K., Annarapu M.R., McCormack P., Gaffney P., Kroll S. Improved purification processes for liraglutide. United States Patent US20220372072A1. 2022 Nov 24.
33. Cheng N., Yang L., Dai N., Hu Z., Yang F., Chen R., Cheng X., Zhou J., Huang Y., Su Z. A novel strategy to prepare the precursor peptide of liraglutide // *Proc Biochem.* – 2017. – Vol. 62. – P. 10–15. DOI: 10.1016/j.procbio.2017.07.006
34. Zhien P., Hao S., Xuwei L., Xiaoyu Y., Xiaozhi Ju, Wancheng G., Mingyan X. Construction and application of *Saccharomyces cerevisiae* protease deletion strain. China Patent CN113249241A. 2021 Oct 15.
35. Baicheng Y., Yunxing Z. Recombinant engineering bacterium for efficiently expressing liraglutide precursor and its application. China Patent CN110724187A. 2022 Sep 16.
36. Haiyan C., Shiye Z., Fengwei A. Recombinant engineering bacterium for expressing liraglutide precursor and construction method and application thereof. China Patent CN114807205A. 2022 Sep 13.
37. Gupta S., Salunkhe S.S., Varshney B., Mody R.S. Expression and large-scale production of peptides. WO Patent WO2018172921A1. 2018 Sep 27.
38. Ahmadi S., Shahsavani M.B., Tavaf Z., Albaghlany R.M., Kumar A., Moosavi-Movahedi A.A., Yousefi R. A novel strategy for production of liraglutide precursor peptide and development of a new long-acting incretin mimic // *PLoS One.* – 2022. – Vol. 17, No. 5. – Art. ID: e0266833. DOI: 10.1371/journal.pone.0266833
39. Щукина В.В., Григорян А.В. Биотехнологические лекарственные препараты // *Actualscience.* – 2016. – Т. 2, № 5. – С. 55–56.
40. Barlos K., Barlos K., Gatos D., Vasileiou Z. A process for preparing a glucagon-like peptide. WO Patent WO2019069274A1. 2019 Apr 11.
41. Yali P., Wang Rui., Xue C., Wei H., Xiaoli LW. The method that fragment condensation prepares liraglutide. China Patent CN104650219B. 2017 Nov 14.
42. Shujie Y., Zhengwu L., Yan Q., Jiaji L., Hui D., Yijiehu C., Wang Q., Gao L., Zhang J., Ge S., Liu J., Qu L., Zhao X., Yan H.H. Preparation method of liraglutide. China Patent CN106699871B. 2020 Jun 12.
43. Patil K.V., Chandwad C.B. An improved process for preparation of liraglutide. WO Patent WO2021130645A1. 2021 Jul 01.
44. Park E.J., Kim E.T., Park J.O. Method for preparing liraglutide using environment-friendly solvent. United States Patent US20230047729A1. 2023 Feb 16.
45. Junfeng P., Jian L., Yaping M., Jiancheng Y. Method for solid phase synthesis of liraglutide. WO Patent WO2013037266A1. 2013 March 21.
46. Han J., Sun L., Chu Y., Li Z., Huang D., Zhu X., Qian H., Huang W. Design, synthesis, and biological activity of novel dicoumarol glucagon-like peptide 1 conjugates // *J Med Chem.* – 2013. – Vol. 56, No. 24. – P. 9955–9968. DOI: 10.1021/jm4017448
47. Bode B. An overview of the pharmacokinetics, efficacy and safety of liraglutide // *Diabetes Res Clin Pract.* – 2012. – Vol. 97, No. 1. – P. 27–42. DOI: 10.1016/j.diabres.2011.12.015
48. Sisley S., Gutierrez-Aguilar R., Scott M., D'Alessio D.A., Sandoval D.A., Seeley R.J. Neuronal GLP1R mediates liraglutide's anorectic but not glucose-lowering effect // *J Clin Invest.* – 2014. – Vol. 124, No. 6. – P. 2456–2463. DOI: 10.1172/JCI72434
49. Secher A., Jelsing J., Baquero A.F., Hecksher-Sørensen J., Cowley M.A., Dalbøge L.S., Hansen G., Grove K.L., Pyke C., Raun K., Schäffer L., Tang-Christensen M., Verma S., Witgen B.M., Vrang N., Bjerre Knudsen L. The arcuate nucleus mediates GLP-1 receptor agonist liraglutide-dependent weight loss // *J Clin Invest.* – 2014. – Vol. 124, No. 10. – P. 4473–4488. DOI: 10.1172/JCI75276
50. van Can J., Sloth B., Jensen C.B., Flint A., Blaak E.E., Saris W.H. Effects of the once-daily GLP-1 analog liraglutide on gastric emptying, glycemic parameters, appetite and energy metabolism in obese, non-diabetic adults // *Int J Obes (Lond).* – 2014. – Vol. 38, No. 6. – P. 784–793. DOI: 10.1038/ijo.2013.162
51. Шестакова М.В., Викулова О.К. Биосимиляры: презумпция виновности? // *Сахарный диабет.* – 2011. – Т. 14, № 4. – С. 91–99. DOI: 10.14341/2072-0351-5825
52. Apostolopoulos V., Bojarska J., Chai T.T., Elnagdy S., Kaczmarek K., Matsoukas J., New R., Parang K., Lopez O.P., Parhiz H., Perera C.O., Pickholz M., Remko M., Saviano M., Skwarczynski M., Tang Y., Wolf W.M., Yoshiya T., Zabrocki J., Zielenkiewicz P., AlKhazindar M., Barriga V., Kelaidonis K., Sarasia E.M., Toth I. A Global Review on Short Peptides: Frontiers and Perspectives. *Molecules.* – 2021. – Vol. 26, No. 2. – Art. ID: 430. DOI: 10.3390/molecules26020430
53. Полянский М.А., Гинак А.И. Основные концепции синтеза пептидов как нового поколения биологически активных препаратов // *Известия СПбГТИ (ТУ).* – 2021. – Т. 58, № 84. – С. 62–65. DOI: 10.36807/1998-9849-2021-58-84-62-65

АВТОРЫ

Аметов Александр Сергеевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эндокринологии, заведующий сетевой кафедрой ЮНЕСКО по теме «Биоэтика сахарного диабета как глобальная проблема», ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; заслуженный деятель науки РФ. ORCID ID: 0000-0002-7936-7619. E-mail: alexander.ametov@gmail.com

Шохин Игорь Евгеньевич – доктор фармацевтических наук, генеральный директор ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-1185-8630. E-mail: i.shohin@cpha.ru

Рогожина Екатерина Алексеевна – соискатель кафедры биотехнологии и промышленной фармации, ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет». ORCID ID: 0000-0002-3325-2605. E-mail: e.kate.rogozhina@gmail.com

Бодрова Татьяна Геннадьевна – соискатель научно-образовательного института фармации им. К.М. Лакина ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. ORCID ID: 0009-0001-0881-4880. E-mail: btatg@mail.ru

Невретдинова Мария Евгеньевна – врач-терапевт ООО «Практика здоровья». ORCID ID: 0000-0003-3008-4594. E-mail: mariamdoc@mail.ru

Белый Петр Александрович – кандидат медицинских наук, старший лаборант кафедры пропедевтики внутренних болезней и гастроэнтерологии ФГБОУ ВО МГМСУ им.

А.И. Евдокимова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-5998-4874. E-mail: pbely@ncpharm.ru

Заславская Кира Яковлевна – ассистент кафедры биологической и фармацевтической химии с курсом организации и управления фармацией Медицинский институт ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0002-7348-9412. E-mail: kiryonok@yandex.ru

Куркин Денис Владимирович – доктор фармацевтических наук, доцент, директор научно-образовательного института фармации им. К.М. Лакина ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425 E-mail: strannik986@mail.ru

Корянова Ксения Николаевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-1571-9301. E-mail: kskor-16@mail.ru

Мищенко Екатерина Сергеевна – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры токсикологической и аналитической химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-7778-8391. E-mail: ekaterina-mischenko1809@mail.ru

Носков Сергей Михайлович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России; терапевт, главный исследователь ГБУЗ ЯО «КБ № 3», Ярославль, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3456-9409. E-mail: Noskov03@gmail.com

